Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

UNTER MITWIRKUNG DER FACHGRUPPE ANALYTISCHE CHEMIE
DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER
VERTRETEN DURCH
H. KIENITZ W. KOCH H. LUTHER H. SPECKER

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

178. BAND, 3. HEFT

MIT 30 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 2. DEZEMBER 1960)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J.F. BERGMANN · MÜNCHEN
1960

Z. analyt. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C.W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C.W. Kreidel, und München, J.F. Bergmann, Band 63—127 (1944) München, J.F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann, und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0,30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 178 **Inhaltsverzeichnis** Heft 3

Originalabhandlungen

Seite

Janecke, H., und I. Maass-Goebels, Beobachtungen bei Vitaminbestimmungen. I. Mitteilung. Vitamin D. Mit 9 Textabbildungen 161

Schmidt, H., Eine spezifische colorimetrische Methode zur Bestimmung der Sorbinsäure. Mit 8 Textabbildungen 173

Khalifa, H., and S. W. Bishara, The Acid-Base Properties of Solochrome Violet R. S. Part I. With 7 Figures in the Text 184

Jayme, G., G. Hahn und H. Knolle, Elektronenoptische Untersuchungen über Probleme der Chromatographie an Glasfaserpapier. Mit 5 Textabbildungen . . . 194

Okáč, A., und M. Bartušek, Nickel- und Manganbestimmung mit Formaldoxim. Mit 1 Textabbildung 198

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

II. Analyse anorganischer Stoffe

Seite

Trennung von Wasserstoff, Neon und Helium bei Normaltemperatur und —78° C an Calciumaluminiumsilicat (M. Krejčí und K. Tesařík) 202
Colorimetrische Bestimmung von Kupfer (M. Mashima) 202
Keimbildung und Fällung von Silberchlorid aus homogener Lösung (D. H. Klein und L. Gordon; D. H. Klein und L. Gordon; D. H. Klein, L. Gordon und Th. W. Walnut) 202
Extraktion von Silber- und Cadmiumdithizonat (G. K. Schweitzer und F. F. Dyer) 203
Trennung kleiner Mengen Gold von Kupfer (S. Hirano, A. Mizuike und K. Yamada) 203
Gravimetrische Bestimmung geringer Berylliummengen (E. S. Prževalsky und L. M. Moiseeva) 203
Magnesiumabtrennung von Natrium und Kalium (A. H. A. Heyn und H. L. Finston) 203
Komplexometrische Bestimmung von Barium und Sulfat (I. Drăgusin) . . . 204
Fällungschromatographische Bestimmung von Zink (I. N. Grigorenko, N. L. Olenovič und A. A. Morozov) 204
Cadmium (I. Grecu; F. W. E. Strelow; F. W. E. Strelow) 204
Bor (L. Danielsson; I. Muraki, K. Hiro, H. Fukuda und E. Miyade; N. S. Poluektov, L. I. Kononenko und R. S. Lauer) 205
Aluminium (M. Mashima; E. Pungor und E. É. Zapp; E. Pungor und E. E. Zapp) 206
Papierchromatographische Trennung von Aluminium, Gallium, Indium und Thallium (R. J. Magee und I. A. P. Scott) 206
Bestimmung von Scandium neben Seltenen Erden und Thorium (I. P. Alimarin und Han-Si Shen) 207
Papierchromatographische Auftrennung von Gemischen aus Scandium, Yttrium, Actinium und den Lanthaniden (J. Danon und M. C. Levi) . . . 208
Trennung der leichten Seltenen Erden durch Ionenaustausch (P. R. Subbaraman, K. S. Rajan und J. Gupta) 208
Bestimmung von Beimengungen an Seltenen Erden in Samarium und Europium (V. L. Kustas und G. V. Lazebnaja) 208
Schnelle elektrolytische Abscheidung der Actiniden bei Tracerkonzentrationen (R. F. Mitchell) 208
Thorium (T. Takahashi und S. Miyake; M. Ishibashi und S. Higashi; G. Goldstein, O. Menis und D. L. Manning) 209
Uran (V. F. Eskevič und L. A. Komarova; V. G. Sočevanov, N. V. Šmakova und G. A. Volkova; A. I. Stabrovskij; D. I. Rjabčikov, P. N. Palei und Z. K. Michailova) 209
Vollständige Indiumtrennung aus zinnhaltigen Materialien (I. S. Levin, R. A. Polovinkina und O. M. Polunina) 211
Germanium (V. A. Nazarenko und N. V. Lebedeva; L. I. Kononenko und N. S. Poluektov; C. Bülow und W. Sicherer; V. A. Nazarenko, N. V. Lebedeva und R. V. Ravickaja; F. Nelson und K. A. Kraus) 211
Direkte komplexometrische Bestimmung von zweiwertigem Zinn (I. Dubský) 212

Seite

Blei (M. Hisada und K. Kashikawa; M. Vancea und M. Voluşniuc; M. Vancea und M. Voluşniuc) 213
Zirkonium (Suseela B. Sant und B. R. Sant; V. F. Lukjanov und E. M. Knjazeva) 213
Spektralphotometrische Bestimmung von Hafnium mit Xylenolorange (K. L. Cheng) 214
Argentometrische Bestimmung von Ammoniak, Ammoniumion und organisch gebundenem Stickstoff mit Variaminblau als Indicator (L. Erdey, K. Vigh und L. Pólos; L. Erdey, L. Pólos und Z. Gregorowicz) 215
Colorimetrische Bestimmung von Mono(Ortho)-phosphat neben kondensierten Phosphaten (K. K. Tewari und P. S. Krishnan; O. H. Lowry und J. A. Lopez; I. Berenblum und E. Chain) 216
Volumetrische Bestimmung von Arsenat (M. Vancea und M. Voluşniuc; M. Vancea und M. Voluşniuc) 216
Wismut (P. F. Lott und R. K. Vitek; M. Vancea und M. Voluşniuc; M. Vancea und M. Voluşniuc; E. C. Martin) 216
Trennung des Niobs oder Tantals von Zirkonium mit Salicylhydroxamsäure (A. K. Majumdar und A. K. Mukherjee; A. K. Majumdar und A. K. Mukherjee) 218
Absolutbestimmung von Schwefel-35 (W. F. Merritt und R. C. Hawkings; J. S. Merritt, J. G. V. Taylor, W. F. Merritt und P. J. Campion) . . . 218
Halbquantitative Bestimmung von Schwefelsäure (J. de Oliveira Meditsch) 219
Bestimmung von Dichromaten, Metaphosphaten und Metavanadaten (J. D. van Norman und R. A. Osteryoung) 219
Molybdate (M. Umeda) 219
Zuverlässiger automatischer Analysator für fluorhaltige Gasgemische (C. W. Weber) 220
Bestimmung von Chlorat und Perchlorat nebeneinander (A. de Sousa; H. Flaschka und F. Huditz; H. Flaschka) 220
Nachweis von Perjodat neben Jodat (A. Berka) 220
Eisen (K. L. Cheng; F. Vydra und R. Přibil) 221
Colorimetrische Bestimmungsmethoden für kleine Mengen von Nitroprussiat und Aquo- bzw. Ammonopentacyanoferrat(II) (B. Jaselskis und J. C. Edwards) 221
Bestimmung von Eisen, Aluminium, Mangan, Calcium und Magnesium nebeneinander (S. Wakamatsu) 222
Bestimmung von Kobalt durch Oxydation mit Kaliumcyanomolybdat (B. Kratochvil und H. Diehl; H. H. Willard und R. C. Thielke) 222
Palladium (I. Dema und V. Voicu) 223

IV. Spezielle analytische Methoden

1. Analyse von Lebensmitteln

Bestimmung von Eisen in Wein (P. Collins und H. Diehl) 223
Nachweis von Hybridenwein in Wein aus Vinifera-Reben (H. Rentschler; P. Ribéreau-Gayon) 224
Nachweis naturreiner und gezuckerter Weine (H. Rebelein; K. Hennig und A. Lay) 225
Bestimmung des spezifischen Gewichts von Emulsionslikören (H. Thiel) . . . 225
Bestimmung der Gesamtmenge der Aminosäuren in Essigen (K. G. Bergner und H. R. Petri; H. W. Spier und G. Pascher; H. Weihrauch) 225
Gaschromatographische Untersuchung von natürlichen Fetten unbekannter Zusammensetzung (A. T. James) 226

Seite

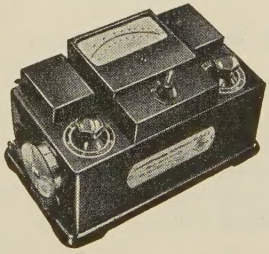
Trennung von Sonnenblumenölfettsäuren mittels Harnstoffeinschlußverbindungen (G. Rankoff, L. Stoilov und S. Spassov) 226
Nachweis von oxydierten Stärken (J. R. Fraser und D. C. Holmes; T. J. Schoch und E. C. Maywald) 226
Milchfettbestimmung (G. Haugaard und J. D. Pettinati) 227
Fraktionierung der Milchproteine mit Hilfe eines Anionenaustauschers auf Cellulosebasis (M. Yaguchi, W. G. Jennings und N. P. Tarassuk; E. A. Peterson und H. A. Sober; H. A. Sober und E. A. Peterson) 227
Direkte Lactosebestimmung in Milch und Serum (J. R. Marier und M. Boulet) 227
Nachweis der Antibiotica in Milch (W. Wodsak; Neal und Calbert) 228
Quantitative Bestimmung von Carraghenin in Milcherzeugnissen (P. M. T. Hansen und R. McL. Whitney) 228
Bestimmung von Selen in Milchpulver (J. Pien, J. Desirant, F. Orsini und P. Avril; K. L. Cheng; T. Danzuka und K. Ueno) 228
Vergleich zwischen einigen Methoden zur Ascorbinsäurebestimmung (J. W. Haken; Bergeret; H. Mohr) 229
Biologische Bestimmung von Histamin in Lebensmitteln (M. Henry) 229
Nachweis von Metanilgelb in Hülsenfrüchten (S. N. Mitra und B. R. Roy; S. N. Mitra und S. C. Roy) 229

4. Analyse von biologischem Material

Literatur (E. Broda) 230
Kenntnis der Beziehung zwischen Dosis und Effekt in der Röntgenstrahlenbiologie und Therapie (E. Krokowski) 230
Nasser Aufschluß von stark fetthaltigem, organischem Material (G. F. Smith und H. Diehl; G. F. Smith; P. O. Bethge) 231
Kaliumbestimmung in Blut, Organen, Geweben, Milch, Brot usw. (S. I. Višnjakov) 231
Photometrische Bestimmung von Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium und Phosphor in 10 ml-Proben von Harn, Milch oder Blut (K. Scharrer und K. Mengel; S. Gericke und B. Kurmies; K. Scharrer und K. Mengel) 231
Bestimmung von Kupfer im Serum (E. Risse; J. C. Robinson; S. L. Tompsett) 231
Bestimmung von Calcium in Blutserum (J. Boxer; H. C. McAllister jr. und C. L. Yarbro; C. L. Yarbro und R. L. Golby; G. P. Hildebrand und C. N. Reilley) 232
Flammenphotometrische Calcium-, Kalium- und Natriumbestimmung in Harn (H. Bünte) 233
Bestimmung kleiner Mengen von Radiostrontium im Harn (V. Zbořil, I. Šebestian, T. Trnoovec und K. Ďurček; J. Kooj) 233
Bestimmung von Organo-Quecksilber-Antiseptica in biologischem Material (S. Hara, N. Okamoto, G. Matsumura und D. Mizuno) 233
Bestimmung von Kohlenstoff-14, Tritium und Schwefel-35 in Blut oder Gewebe (R. J. Herberg; J. M. Passmann, N. S. Radin und J. A. D. Cooper; M. Vaughan, D. Steinberg und J. Logan; F. E. Kinard) 233
Bestimmung von Spuren von Cyaniden im Fischgewebe (K. Mardsen; E. J. Conway) 234
Carbonatbestimmung in biologischen Metallcarbonaten (R. F. Sharp, J. S. Elliot und L. Lewis) 234
Beeinflussung der photometrischen Bestimmung von Phosphat im Harn (K. Schriever; K. Schriever, E. Bamann und R. Toussaint) 234

Seite

Bestimmung kleiner Mengen Fluorid in Körperflüssigkeiten (H. W. Linde) . . 234
Chloridbestimmung in Blutserum oder Plasma (H. V. Malmstadt, J. D. Winefordner; H. V. Malmstadt und J. D. Winefordner; H. V. Malmstadt und T. P. Hadjiioannou) 235
Jodbestimmung im Eiweiß nach Barker (S. E. Barker, M. J. Humphrey und M. H. Soley; J. A. Ackerman und J. T. Myers) 236
Polarographische Bestimmung kleinster Manganmengen in biologischem Material (R. Portillo, P. Sanz Pedrero und J. B. Benmamam) 236
Erfahrungen mit der Serumeisen- und Serumkupfer-Simultanbestimmung (F. G. Weyer; F. Umland und F. G. Weyer) 237
Aminosäuren (R. E. Dunbar und F. J. Ferrin; A. Saifer, S. Gerstenfeld und A. F. Harris; E. W. Yemm und E. C. Cocking; D. Müting und K. N. Shivaram; F. G. Fischer und H. Dörfel) 237
Bestimmung von Serumproteinen (W. Mejbaum-Katzenellenbogen und W. M. Dobryszycka; W. Mejbaum-Katzenellenbogen) 238
Bestimmung von Glucose im Serum (H. V. Malmstadt und G. P. Hicks) . . 239
Photometrische Schnellmethode zur Bestimmung der „scheinbaren" Blutglucose (E. Valverde) 239
Bestimmung von Heparin im Blut (E. Hiepler) 239
Bestimmung von 17-Ketosteroiden in Harn (F. Rappaport, J. Fischl und N. Pinto; J. J. Drekter, S. Pearson, E. Bartaak und T. H. McGavack) 240



UNIVERSAL-KOLORIMETER
JUBILÄUMS-MODELL

mit folgenden Verbesserungen:
Erhöhte Empfindlichkeit regelbar von 0,1—100% Abs.
Galvanometer mit Spannbandsystem.
Umschaltbar für Fluoreszenz- und Trübungsmessungen.
Hg-Cd Lampe für monochromatische Messungen.

Preis komplett DM 726.—

Verlangen Sie die neue Liste 8/JAC.

DR. B. LANGE
BERLIN-ZEHLENDORF
Hermannstraße 14—18

Vor kurzem erschien:

Die zahlenmäßige Entwicklung des Hochschulbesuches in den letzten fünfzig Jahren

Von Dr. rer. pol. Cäcilie Quetsch,
Siemens-Schukertwerke AG

Mit 11 Bildern und 15 Tabellen.
VIII, 56 Seiten Gr.-8°. 1960.
Steif geheftet DM 7,50

INHALTSÜBERSICHT

Einleitung · Der Hochschulbesuch seit dem Studienjahr 1908/09 bis 1957/58 · Die wichtigsten Einflüsse auf den Hochschulbesuch · Die zukünftige Entwicklung · Tabellen · Schrifttumsverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Aus dem Institut für Lebensmittelchemie der Universität Frankfurt a. M.

Beobachtungen bei Vitaminbestimmungen*

I. Mitteilung

Vitamin D

Von

H. Janecke und I. Maass-Goebels

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 11. Mai 1960)

Die Isolierung der fettlöslichen Vitamine zum Zweck ihrer chemischen Bestimmung erfolgt im allgemeinen aus dem Unverseifbaren der Fette und Öle mit Hilfe der Adsorptionschromatographie. Es soll hierdurch eine Abtrennung von den Begleitstoffen erreicht werden, so daß das betreffende Vitamin dann direkt spektrophotometrisch oder nach Zugabe einer Reagenslösung colorimetrisch quantitativ ermittelt werden kann.

Die Vielzahl der für die D-Vitamine erschienenen Arbeiten beweist am besten die Schwierigkeit des Problems, eine einfache, routinemäßig durchzuführende, quantitative Abtrennung des Unverseifbaren von Fetten und Ölen zu erzielen, da die einzelnen Bestandteile viele gemeinsame Eigenschaften besitzen. Im allgemeinen sind die veröffentlichten Arbeiten auf pharmazeutische Zubereitungen oder auf Konzentrate aus Naturstoffen abgestellt, die erheblich größere Mengen davon als die Grundstoffe und Lebensmittel enthalten, bestrahlte Milch z. B., die nur einige Mikrogramm Vitamin D_3 im Liter neben verhältnismäßig großen Mengen an Sterinen und Carotinoiden besitzt. Man hat zur Auftrennung des Unverseifbaren aktiviertes Aluminiumoxyd, Floridinerde, Superfiltrol, Betonit (mit Säure aktiviert) Bolbus alba, Talkum (mit $SbCl_3$ imprägniert) und Kartoffelstärke sowie andere Adsorptionsmittel empfohlen und angewendet.

Da uns an einer einwandfreien Abtrennung der Begleitstoffe sehr gelegen war, um geringe Mengen an Vitamin D_3, z. B. in bestrahlter Milch oder in Serum der weiteren Bestimmung zugänglich zu machen, wurden einige der aufgeführten Adsorptionsmittel auf ihre Eignung hin überprüft. Diese wurden jeweils nach den angegebenen Arbeitsvorschriften, in einigen Fällen zusätzlich auch mit abgeänderter Methodik, angewen-

* Herrn Professor Dr. phil. habil. Walther Awe, Direktor des Institutes für Pharmazeutische Technologie an der Technischen Hochschule in Braunschweig, zu seinem 60. Geburtstag gewidmet.

det. Es soll besonders hervorgehoben werden, daß die erhaltenen Ergebnisse bei *kleinen* Vitamin D-Mengen nicht restlos befriedigen konnten.

Im folgenden wird über einige Beobachtungen berichtet, die besonders erkennen lassen, welche Schwierigkeiten bei der chemischen Bestimmung von kleinen Mengen an Vitamin D auftreten können. Wir führten Modellversuche mit D-Vitaminen durch, die nur als *Vor*versuche zu werten sind, in denen wir einige Stufen, die bei der chemischen Vitamin D-Bestimmung durchlaufen werden, gesondert untersuchten.

Einfluß des Adsorptionsmittels und der Verseifung

Es wurde beobachtet, daß *Vitamin D_3* in alkoholischer Lösung nach Verseifung* (mit 2 n alkoholischer Kalilauge, 45 min lang) und nach *Chromatographie über Floridinerde* mit Carr-Price-Reagens bereits in der Kälte unter der Grünfärbung (unbeständig) reagiert, die nach Diemair u. Manderscheid[2,10] nach dem Erhitzen auf 60° C auftritt. Die Absorptionskurve war wesentlich flacher, das Maximum war breiter geworden und hatte sich von 265 nm nach 270 nm hin verschoben (Abb. 1).

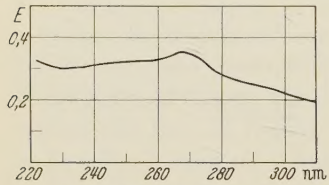
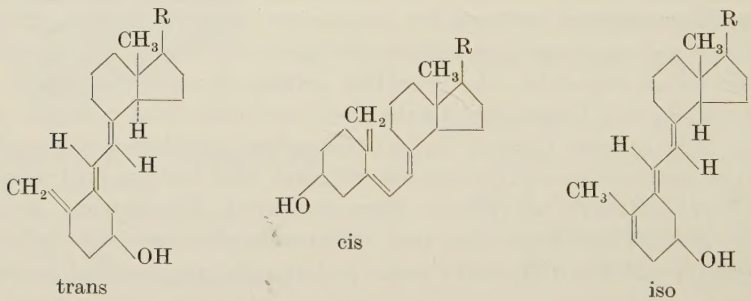


Abb. 1. Extinktionskurve von Vitamin D_3 (alkalisch behandelt)

Dieses Maximum spricht für eine Isomerisierung, für die Bildung von trans-Vitamin D_3:



Vitamin D

Inhoffen u. Mitarb.[8] konnten die Existenz einer vom natürlichen 5,6-cis-Vitamin D_2 ausgehenden chemischen Isomerisierungsreihe nachweisen und jeden einzelnen Schritt präparativ realisieren. Sie fanden für das trans-Vitamin D_2 ein Absorptionsmaximum von 270—272 nm. Diese Beobachtungen haben sicher auch für Vitamin D_3 Gültigkeit. Von

* Die für die Arbeit erforderlichen Mengen an Vitamin D_2 und D_3 wurden uns freundlicherweise von der Fa. E. Merck, Darmstadt, zur Verfügung gestellt, wofür auch an dieser Stelle nochmals gedankt sei.

eingesetzten 100 μg Vitamin D_3 konnten bei der Auswertung nach DIEMAIR u. MANDERSCHEID[2,10] nur etwa 80% wiedergefunden werden. Hierbei wurde die erfolgte Veränderung unberücksichtigt gelassen. Wurde die Verseifung unter Einleiten von Stickstoff vorgenommen, so konnte in dem Rückstand nach dem Durchlaufen der Floridinerde-Säule mit $SbCl_3$ in der Kälte eine hellrosa Färbung erzielt werden, die erst beim Erhitzen auf 60° C in Grün umschlug (vgl. die später angeführten Beobachtungen mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie). Wie besondere, eingehende Versuche zeigten, konnten beim Abdestillieren von Lösungsmitteln (z. B. Chloroform, Benzol) keine wesentlichen Verluste an Vitamin D_3 nach der Methode von DIEMAIR u. MANDERSCHEID beobachtet werden, wenn unter Vakuum gearbeitet wurde; beim Erhitzen auf 85°C (10 min lang) war eine Abnahme und geringe Verschiebung des Maximums der Absorptionskurve festzustellen (Abb. 2). Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie könnten vielleicht hier Veränderungen auf einfache Weise sichtbar gemacht werden.

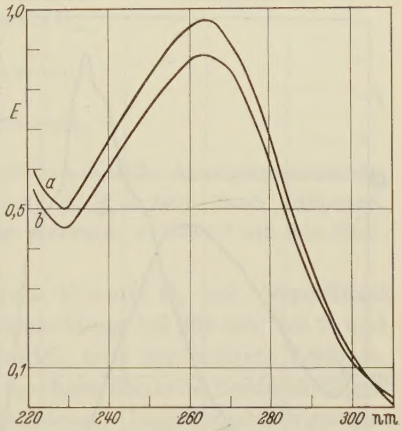


Abb. 2. Extinktionskurven von Vitamin D_3, Einfluß des Erhitzens. *a* Lösung von 100 μg Vitamin D_3 in 5 ml Petroläther; *b* Lösung von 100 μg Vitamin D_3 in Petroläther, 10 min lang auf 85° C erhitzt; Abdampfrückstand in 5 ml n-Hexan aufgenommen und im Spektrophotometer gemessen

Interessante Ergebnisse wurden bei *Chromatographie von Vitamin D_3-Lösungen* (5 mg/50 ml Petroläther) erzielt. Hierzu wurde 1 ml (= 0,1 mg) der angegebenen Lösung über eine *Säule von Superfiltrol* chromatographiert, mit Benzol eluiert, Eluat vom Lösungsmittel befreit, der Rückstand in 5 ml Hexan (gereinigt) aufgenommen und anschließend im Spektrophotometer gemessen. Wir wählten dieses Adsorptionsmittel, weil es von EMMET u. Mitarb.[4] empfohlen wurde. Die Absorptionskurve war stark verändert (Abb. 3); eine zwei- und dreimalige Chromatographie brachte eine völlige Verschiebung des Maximums, das bei Vitamin D_3 bei 265 nm liegt (Abb. 4). Die Carr-Price-Reaktion war noch nicht verändert. Auch die *Chromatographie über Al_2O_3* (alkalisch) bewirkte eine Verschiebung der Absorptionskurve.

Analoge Beobachtungen machten LAUGHLAND u. PHILIPPS[9] an Vitamin A; sie fanden eine Umwandlung des Vitamin A in das im Tierversuch unwirksame Anhydrovitamin A bei Gegenwart von Betonit-Na.

EWING, SCHLACH u. POWELL[5] beobachteten Abbauprodukte in einer Vitamin A-Lösung nach dem Durchlaufen einer Superfiltrolsäule. WILKIE, JONES u. KLINE[18] stellten gelbe und farblose Verbindungen nach dem Passieren einer MgO-Säule

fest, die sie als Umwandlungsprodukte von Vitamin A ansahen. Die Menge an diesen Verbindungen und ihre Fluorescenzintensität nahmen bei wiederholter Passage zu. Sie halten die Anwesenheit von Vitamin A-Epoxyd für möglich. Die gleichen Autoren fanden bei Vitamin D eine Verschiebung des Maximums von 265 nach 270 nm (trans-Vitamin D-Bildung) nach dem Durchlaufen einer *MgO-Säule*.

Diese Ergebnisse zeigen eindeutig, mit welchen Schwierigkeiten bei der chemischen Vitamin D-Bestimmung zu rechnen ist. Die Abtrennung der üblichen Begleitstoffe durch Verseifung, der sich eine Chromatogra-

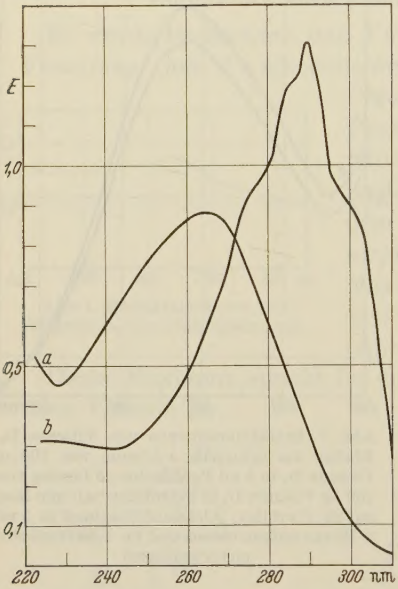


Abb. 3. Extinktionskurven von Vitamin D_3, Veränderung durch einmalige Chromatographie über Superfiltrol. *a* Lösung von 100 μg Vitamin D_3 in 5 ml n-Hexan; *b* Lösung von 100 μg Vitamin D_3 in Petroläther, Chromatographie über Superfiltrol; Eluatrückstand in 5 ml n-Hexan aufgenommen; Absorptionsmessung im Spektrophotometer

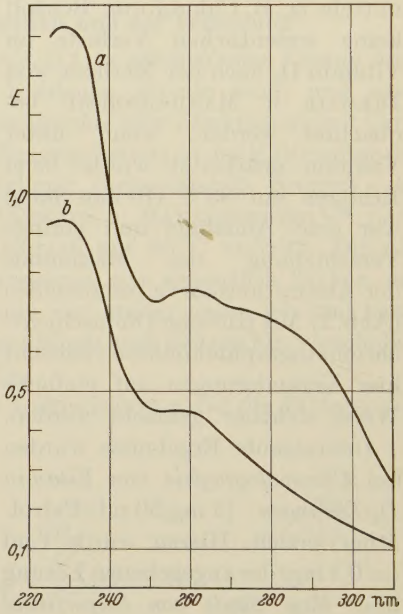


Abb. 4. Extinktionskurven von Vitamin D_3, Veränderung durch wiederholte Chromatographie über Superfiltrol. Lösung von Vitamin D_3 in Petroläther. *a* nach 2maliger Chromatographie; *b* nach 3maliger Chromatographie über Superfiltrol; Eluatrückstände in n-Hexan aufgenommen; Absorptionsmessung im Spektrophotometer

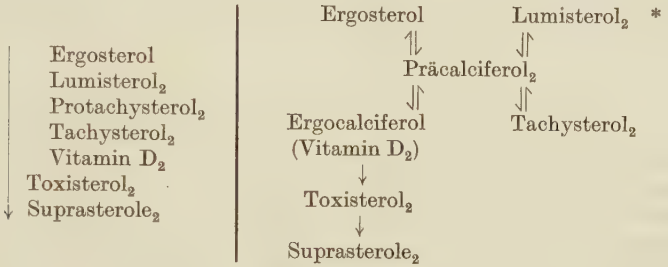
phie anschließt, kann bereits bei Gegenwart von nur *kleinen* Vitamin D-Mengen zu einer mehr oder weniger weitgehenden Veränderung des Vitamins führen. *Die Wahl des Adsorptionsmittels ist daher von entscheidender Bedeutung und eine Verseifung sollte tunlichst vermieden werden.*

Umwandlungsprodukte von Vitamin D

Da bei den verschiedenen Behandlungsweisen nicht die gleichen Folgeprodukte auftraten, liegt die Annahme — zu der Mayer, Picard u. Wokes[12] in ihrer Arbeit über die Veränderungen von Vitamin D_2 bei der Papierchromatographie

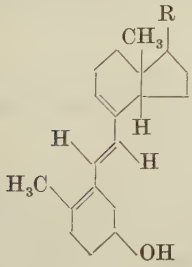
neigen — nahe, daß eine Verschiebung unter Zugrundelegung der Vorstellungen von Velluz[15] über die photochemische Umwandlung von Ergosterol in Ergocalciferol erfolgte. Dieser nimmt an, daß das Präcalciferol eine zentrale Stellung inne hat und daß sich über diesen Stoff die verschiedenen Bestrahlungsprodukte bilden.

Umwandlungsprodukte von Vitamin D_2.

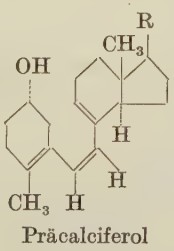


Präcalciferol hat nach Velluz u. Mitarb.[16] etwa dasselbe Absorptionsmaximum wie Vitamin D_2 (oder D_3) (max. = 265 nm; $E^{1\,\%}_{1\,cm} = 240$). Nach Inhoffen, Brückner u. Quinkert[7], sowie nach Shaw, Jeffries u. Holt[13] soll sein Maximum bei 262 nm liegen.

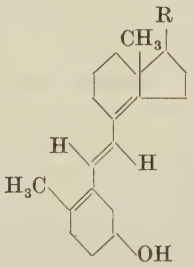
Bei der einmaligen Behandlung von Vitamin D_3 mit Superfiltrol (Abb. 3) erfolgt eine eindeutige Maximumsbildung bei 289 nm, bei 2- und 3facher mit dem gleichen Adsorptionsmittel tritt eine weitere Veränderung ein. Mayer, Picard u. Wokes[12] machten ähnliche Beobachtungen an Cholecalciferylbutyrat, das verschiedenen Lagerungsbedingungen unterworfen war. Das Maximum bei 289 nm, die nur angedeuteten Maxima bei 278—280 und 300—302 nm sprechen für eine Umwandlung in iso-Vitamin D_3 oder in iso-Tachysterol$_3$, deren Maxima dicht beieinander liegen:



Tachysterol



Präcalciferol



iso-Tachysterol

Infolge der relativ langwelligen Lage der UV-Maxima könnte kein ringgeschlossenes Isomeres vorliegen. Nach den Untersuchungen von Inhoffen u. Mitarb.[6] ist das iso-Tachysterol sehr stabil; es stellt nach ihrer Ansicht einen Endzustand der Isomerisierung dar. Es ist denkbar,

* Siehe dazu auch Inhoffen u. Irmscher[6].

daß sich alle 9,10-seco-*Triensysteme in dieser Weise stabilisieren, sodaß die gefundenen Absorptionskurven wohl dem iso-Tachysterol zugeordnet werden können, das über das Präcalciferol gebildet werden kann.

Zur besseren Übersicht sind in der folgenden Tabelle die Absorptionsmaxima einiger mit den Ausführungen im Zusammenhang stehenden Verbindungen zusammengestellt.

Tabelle

Verbindungen	Absorptionsmaxima in nm		
Ergosterol	271	282	
Vitamin D_2 und D_3	265		
Lumisterol	265	280	
Tachysterol	281		
Präcalciferol	262		
Toxisterol	248		
Suprasterol I	250		
iso-Vitamin D_2	276	287	299
trans-Vitamin D_2	272—273		
iso-Tachysterol	279	289	302
u-Tachysterol	275—277		
Pyrotachysterol (= trans-Tachysterol)	265	289	300
iso-Pyrocalciferol	274	284	
Monoepoxycalciferol	226		
Monoepoxypräcalciferol	244		
Dihydroxydihydropräcalciferol	242	248	257

Eindeutig liegen die Verhältnisse auch bei der *Chromatographie über Aluminiumoxyd (alkalisch)*. Es kommt zu einer Verschiebung des Maximums von 265 nm nach 260 nm. Hier kann man die *Bildung von Präcalciferol* annehmen (Abb. 5).

Wir kommen noch einmal auf unsere Beobachtung der *Verschiebung des Maximums beim Erwärmen von Vitamin D-Lösungen* zurück. Nach den Ergebnissen von Velluz u. Mitarb.[16] stellt sich zwischen dem Ergocalciferol und dem Ergopräcalciferol (auch ohne Lichteinwirkung) beim Erwärmen ein Gleichgewicht ein, das weit auf der Seite des D-Vitamins liegt, so daß die Veränderung der Absorptionskurve durch Bildung von Präcalciferol verursacht worden sein kann. Eine Veränderung der Absorptionskurve, die ein Zeichen für Umlagerungen im Molekül ist, wurde nicht nur bei Vitamin D_2 und Vitamin D_3 beobachtet. Auch Ergosterol, in gleicher Weise mit Superfiltrol behandelt, zeigte eine

* Bei ringoffenen Steroiden wird die geöffnete Bindung durch die Vorsilbe „seco" gekennzeichnet und im übrigen der Name des entsprechenden ringgeschlossenen Grundkörpers zugrundegelegt. Danach kann man das iso-Tachysterol als 9,10-seco-$\Delta^{10,5-6,7-8,14-22,23}$ Ergostatetraen-3-β-ol bezeichnen[6].

starke Deformation der ursprünglichen Absorptionskurve, wie aus der Abb. 6 zu ersehen ist. Die für Ergosterol charakteristischen Absorptionsmaxima verschwanden und es resultierte nach dem Passieren einer Superfiltrolsäule eine wenig aussagende Kurve.

Es war naheliegend, für die Kenntlichmachung der Veränderungen auch die Papierchromatographie heranzuziehen. Als besonders geeignet erwies sich die Dünnschichtchromatographie in der von STAHL[14] entwickelten Form.

Bei der *Papierchromatographie* erzielten wir Ergebnisse, die denen von MAYER, PICARD u. WOKES[12] sehr ähnlich sind. Wir konnten die besondere Empfindlichkeit von Vitamin D_3 in Lösungen bestätigen.

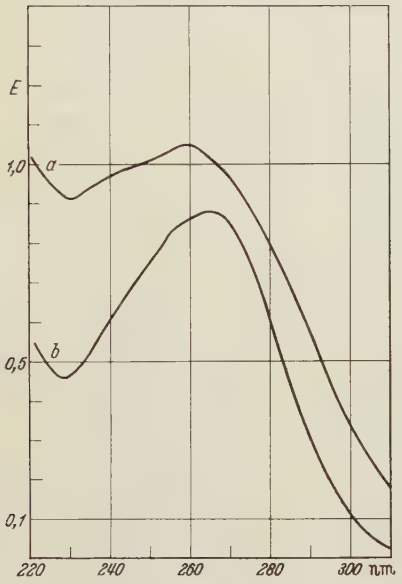


Abb. 5

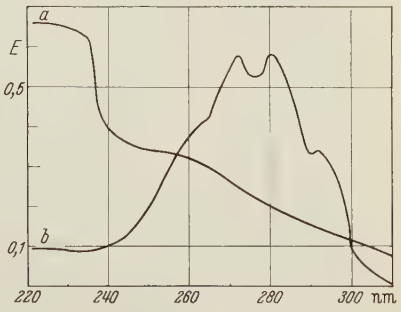


Abb. 6

Abb. 5. Extinktionskurven von Vitamin D_3, Veränderung durch Chromatographie über Aluminiumoxyd. *a* Lösung von 100 μg Vitamin D_3 in Petroläther, Chromatographie über Al_2O_3, Eluatrückstand in 5 ml n-Hexan aufgenommen; *b* Lösung von 100 μg Vitamin D_3 in 5 ml n-Hexan. Absorptionsmessung im Spektrophotometer

Abb. 6. Extinktionskurven von Ergosterol. *a* Lösung von 100 μg Ergosterol in Petroläther, Chromatographie über Superfiltrol, Eluatrückstand in 5 ml n-Hexan aufgenommen; *b* Lösung von 100 μg Ergosterol in 5 ml n-Hexan. Absorptionsmessung im Spektrophotometer

Auch in Substanz, in kleinen Mengen verpacktes und aufbewahrtes Vitamin D_2 und D_3 zeigten nach verhältnismäßig kurzer Lagerzeit zwei bis mehrere Flecke auf dem Papierchromatogramm, die auf Umlagerungen hinweisen. Es wurde mit Paraffin. liquid. imprägniertem Papier (Schl. & Sch. 2043 b) nach dem Prinzip der umgekehrten Phasen unter Verwendung von Eisessig und Methanol (in unterschiedlicher Menge) als Verteilungsmittel gearbeitet. Die Kenntlichmachung der Flecke erfolgte durch Besprühen mit Phosphorwolframsäurelösung (20%ig in Äthanol) und anschließender Erhitzung auf 70° C (20 min lang) im Trockenschrank. Die Sichtbarkeitsgrenze lag bei etwa 10 μg Vitamin D_3.

Die *Dünnschichtchromatographie* erwies sich als besonders geeignet zur Feststellung von Veränderungen. Als Verteilungsmittel dienten Hexan allein oder im Gemisch mit Essigester (10%); gute Ergebnisse wurden auch mit Chloroform erzielt. Die Sichtbarmachung der Flecke erfolgte,

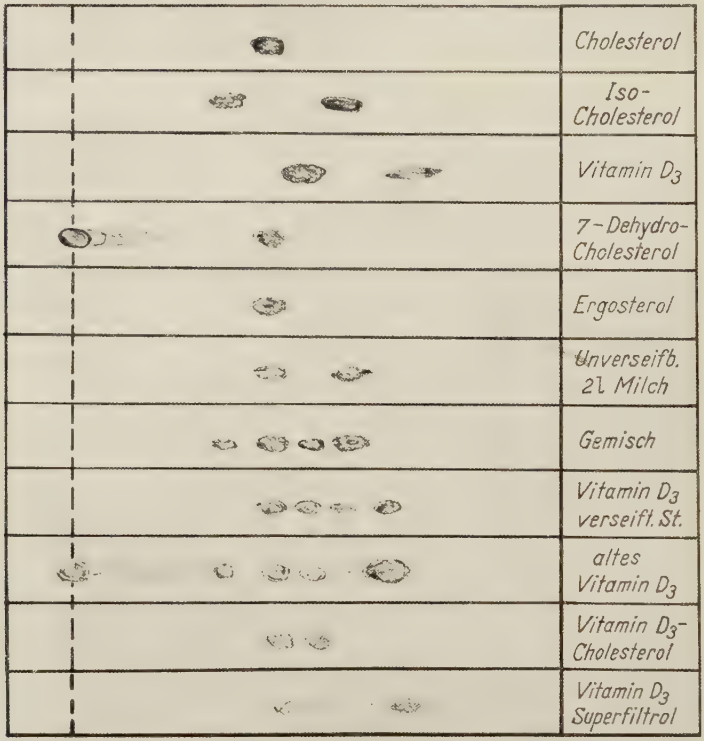


Abb. 7. Zusammenstellung einiger Dünnschichtchromatogramme (nachgezeichnet)

wie bei der Papierchromatographie, durch Besprühen mit Phosphorwolframsäure (PWS), dem sich ein Erhitzen auf 70° C im Trockenschrank anschloß.

Das Dünnschichtverfahren läßt auch eine Provokation mit $SbCl_3$ zu; eine Erhitzung auf 70° C kann auch hier bei der Differenzierung der einzelnen Flecke Vorteile bieten. Die Anwendung von UV-Licht brachte keine Verbesserung.

Die Vitamine D_2 und D_3 und einige Sterole zeigten nach Behandlung mit PWS die folgenden Farbunterschiede:

Vitamin D_2 und D_3	: hellbraun
Ergosterol	: rotviolett
Cholesterol	: rosa-kirschrot
7-Dehydrocholesterol	: dunkelbraun.

Eine Trennung der Sterole von den beiden D-Vitaminen gelang einwandfrei; eine Differenzierung der einzelnen Sterole nach der einfachen angegebenen Methode war nicht in allen Fällen möglich. Es wurde aber auch hier schon ein Weg gefunden, über den später berichtet wird (Abb. 7).

Eine Trennung der D-Vitamine und Sterole von den Carotinoiden gelang einwandfrei, die bei der Bestimmung von kleinen Mengen an Vitamin D, z. B. in bestrahlter Milch, häufig stören. Die Carotinoide sammelten sich in der Höhe des Grenzstriches, ohne hier besondere Punkte zu bilden.

Es läßt sich aus dieser Beobachtung vielleicht eine *Methode zur Bestimmung von kleinen D-Vitaminmengen* entwickeln. Es käme eine visuelle Erfassung in Frage, indem man die kleinste, gerade noch sichtbare Menge an Vitamin D_2 (angefärbt mit PWS) jeweils bestimmt und diesen Wert mit der Versuchsreihe vergleicht. Es wurden von uns schon in dieser Richtung hin Versuche unternommen, die einigermaßen befriedigende Ergebnisse hatten. Die individuellen Schwankungen bei der Erkennung der kleinsten Vitamin D-Mengen lassen sich zum Teil dadurch ausschalten, daß jedesmal die gerade noch erkennbare, kleinste Menge erneut bestimmt wird. Die Übernahme des Wertes, der an einem anderen Tag, unter anderen Lichtbedingungen oder gar von verschiedenen Versuchspersonen gewonnen wurde, ist nicht zulässig. Dieser „Empfindlichkeitswert", dessen Gehalt an Vitamin D bekannt ist, wird mit denen, die mit der Versuchslösung erhalten wurden, verglichen. Da das aufgetragene Volumen (mit Agla Syringe z. B. gemessen) bekannt ist, läßt sich der annähernde Vitamin D-Gehalt in verhältnismäßig kurzer Zeit (die Laufzeit beträgt nur etwa 30 min) ermitteln. Ein Beispiel zeigt die Abb. 8. Die auf den Abschnitten angegebenen Zahlen geben die auf dem Startpunkt (der sich den Zahlen gegenüber befindet) aufgetragenen Milliliter (0,06–0,002) einer Lösung von 10 μg in 1 ml Hexan an. Als letzter sichtbarer Fleck war „0,01 ml" bei der Betrachtung gegen Licht zu erkennen, was einer Menge von 0,1 μg an Vitamin D_2 entspricht. Der Fleck ist auf der Reproduktion nicht mehr sichtbar. Die Abbildung soll auch nur einen Eindruck davon vermitteln, wie vorgegangen wurde. Das Siliciumdioxyd (E. Merck, zur Dünnschichtchromatographie nach Stahl) wurde hierbei auf eine größere Spiegelglasplatte aufgetragen. Es empfiehlt sich, zur Abgrenzung der einzelnen Laufzonen mit einer Nadel Linien einzuzeichnen. Die niederen Konzentrationen sind etwas schneller gelaufen als die höheren; durch

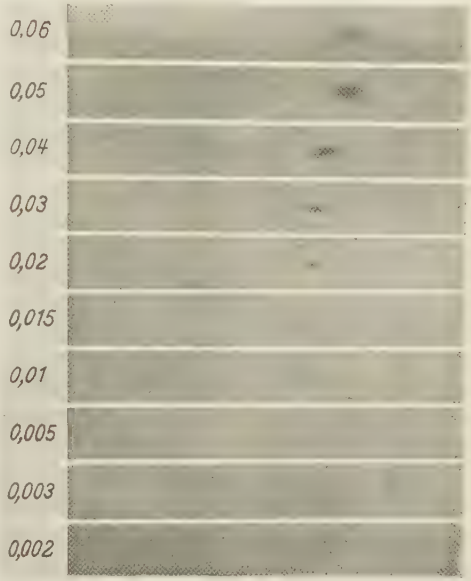


Abb. 8. Dünnschichtchromatogramm verschiedener Vitamin D_2-Mengen (die Zahlen bedeuten Milliliter Vitamin D_2-Lösung mit einem Gehalt von 10 μg/ml)

die Anfärbung ist aber eine Feststellung der Lage der einzelnen Flecke möglich. Ein Problem bleibt aber auch hier bestehen: die Alkaliempfindlichkeit der D-Vitamine.

Verseifungsprodukte. Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie konnte festgestellt werden, daß aus dem Vitamin D_3 bei der Verseifung mehrere Produkte entstehen (Abb. 9), von denen das eine mit Digitonin fällbar ist. Der von Digitonin befreite Niederschlag färbt sich mit Carr-Price-Reagens schwach rosa. Die Anzahl und die Intensität der bei der Verseifung auftretenden Flecke ist unabhängig von der Konzentration der Vitamin D-Lösung. Obwohl die alkoholische Kalilauge immer im Überschuß vorhanden war, spielt die Vitamin D-Menge für das Entstehen

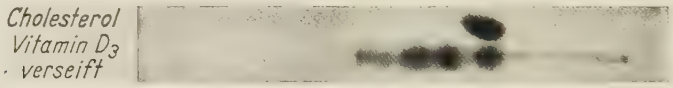


Abb. 9. Dünnschichtchromatogramm von Vitamin D_3 (alkalisch behandelt) und von Cholesterol

der verschiedenen Umwandlungsprodukte eine erhebliche Rolle. Die Verwendung von Stickstoff bei der Verseifung stellt auch keinen ausreichenden Schutz dar. Es wurden beim Einsatz (Verseifung unter Stickstoff) von 100 μg Vitamin D_3 vier verschiedene Farbflecke nach dem Entwickeln mit PWS auf dem Dünnschichtchromatogramm gefunden, von denen der sich rot anfärbende mit Digitonin aus der Lösung gefällt werden konnte (Präcalciferol ist nicht mit Digitonin fällbar[16]). Licht und Erwärmung bei der Verseifung fördern die Bildung der mit Digitonin fällbaren Substanz. Bei vollständigem Lichtabschluß bildet sich diese nur in geringem Ausmaß.

Mariani[14] beobachtete bei Licht- und Lufteinfluß bei Vitamin D_2 eine Abnahme der Absorption bei 265 nm.

Die mehrmals beobachtete (sich mit PWS rosa anfärbende) Substanz verhielt sich wie Cholesterol: sie zeigte denselben R_f-Wert auf dem Dünnschichtchromatogramm, ließ sich mit PWS in gleicher Weise anfärben und war mit Digitonin fällbar. Durch IR-Spektroskopie* konnte jedoch festgestellt werden, daß — wie auch erwartet — dieses nicht vorlag. Die beobachteten Eigenschaften deuten möglicherweise auf die Bildung von Isopyrocalciferol hin, bei dem ein Ringschluß zwischen den C-Atomen 9 und 10 vorliegt[1,3], so daß man diese Verbindung als Isomeres des Ergosterols (bzw. des 7-Dehydrocholesterols bei Einsatz von Vitamin D_3) ansehen kann[9a]. Hierfür spricht auch das Verhalten bei der Dünnschichtchromatographie, bei der die Substanz, wie Cholesterol (Ergosterol verhält sich gleichartig) lief und sich mit PWS anfärben ließ. Isopyrocalciferol ist mit Digitonin fällbar[19].

* Wir danken den Farbwerken Hoechst AG., vormals Meister Lucius & Brüning, Anwendungstechnische Abteilung, insbesondere Herrn Dipl.-Phys. Suhr, für die Durchführung und Auswertung der IR-spektroskopischen Aufzeichnungen.

In einem (mit Digitonin) fällbaren Sterol stehen die Hydroxylgruppen am C_3 und die Methylgruppe am C_{10} in cis-Stellung zueinander. Entscheidend ist die relative cis-Stellung der beiden Substituenten. So sind z. B. Ergosterol, Cholesterol, Isopyrocalciferol u. a. mit dem Saponin fällbar, während Lumisterol, Tachysterol, Vitamin D, Präcalciferol u. a. nicht in dieser Weise reagieren.

In einem anderen Versuch, bei dem von einer großen Vitamin D_3-Menge (5,0 mg/5 ml) ausgegangen wurde, konnte nur eine relativ geringe Verschiebung des Maximums (nach 261 nm) beobachtet werden, was auch als Bildung von Präcalciferol (Einstellung eines Gleichgewichtes, das nach der Vitamin D-Seite hin verschoben ist) gedeutet werden kann.

Die knapp dargestellten Ergebnisse sollen nur als Beobachtungen gewertet werden, die als Grundlage für weitere Untersuchungen dienen. Sie sind nach unserer Ansicht keinesfalls als vollständig und endgültig anzusehen. Sie zeigen uns aber sehr deutlich, daß die D-Vitamine sehr empfindliche Substanzen sind, die leicht Veränderungen unterliegen. Verseifung, auch unter Stickstoff, führt zu Umwandlungen, die bei Gegenwart von Licht und Wärme recht erheblich sein können. Noch Vogel[16] gibt an, daß das Vitamin D_2 gegen Alkali verhältnismäßig beständig ist. Bei der Vorbereitung von Naturstoffen zur Vitamin D-Bestimmung werden häufig Superfiltrol und auch Aluminiumoxyd zur Abtrennung von Begleitsubstanzen angewendet. Bei reinem Vitamin D_2 und D_3-Lösungen genügt allein schon das Passieren einer Säule, gefüllt mit diesen aktiven Adsorptionsmitteln, um eine Änderung im Molekül hervorzurufen, die mit Hilfe des Spektrophotometers oder der Dünnschichtchromatographie verfolgt werden kann. An älteren Präparaten wurde mit Hilfe der Papier- und Dünnschichtchromatographie gezeigt, daß Eingriffe, wie z. B. Verseifung und Erhitzung, nicht einmal erforderlich sind, um Veränderungen herbeizuführen; diese scheinen durch den Luftsauerstoff verursacht zu werden.

Die Untersuchungen werden unter Berücksichtigung verschiedener anderer Faktoren weitergeführt.

Zusammenfassung

Es wurde festgestellt, daß die D-Vitamine leicht veränderliche Substanzen sind. Im Gegensatz zu Literaturangaben wurde bei der alkalischen Behandlung (Verseifung), auch unter Stickstoff die Bildung von mehreren Umwandlungsprodukten beobachtet. Zur Erkennung der Veränderungen wurden die Spektrophotometrie, die Papierchromatographie und auch die Dünnschichtchromatographie herangezogen. Bei der Vorbereitung von Naturstoffen oder von Extrakten, z. B. zur Vitamin D-Bestimmung, können aktive Adsorptionsmittel Anlaß zu Molekülveränderungen sein. Die Frage nach den hierbei entstehenden Produkten wird diskutiert. Diese Beobachtungen sind von besonderer Bedeutung für die chemische Bestimmung von *kleinen* Vitamin D-Mengen.

Diese Arbeit wurde mit finanzieller Unterstützung des Verbandes der Chem. Industrie — Fonds der Chem. Industrie — durchgeführt, dem hierfür auch an dieser Stelle vielmals gedankt sei.

Literatur

[1] Busse, P.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **214**, 211 (1933). — [2] Diemair, W., u. G. Manderscheid: diese Z. **129**, 154, 254 (1949); **138**, 1 (1953). — [3] Dimroth, K.: Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 376, 1631 (1937). — [4] Ewing, D. T., M. J. Powell, R. A. Brown and A. D. Emmet: Analyt. Chemistry **20**, 317 (1948). — [5] Ewing, D. T., T. D. Schlabach, M. J. Powell, J. W. Vaitkus and O. D. Bird: Analyt. Chemistry **26**, 1406 (1954); vgl. diese Z. **147**, 301 (1955). — [6] Inhoffen, H., u. K. Brückner: In: Fortschritte der Chemie org. Naturstoffe: Probleme und neuere Ergebnisse in der Vitamin D-Chemie. Wien: Springer 1954. — [6a] Inhoffen, H., u. K. Irmschar: In: Fortschritte der Chemie org. Naturstoffe: Fortschritte der Chemie der Vitamine D u. ihrer Abkömmlinge. Wien: Springer 1959. — [7] Inhoffen, H., K. Brückner, K. Irmscher u. G. Quinkert: Ber. dtsch. chem. Ges. **88**, 1424 (1955). — [8] Inhoffen, H., G. Quinkert, H. J. Hess u. H. M. Erdmann: Ber. dtsch. chem. Ges. **89**, 2273 (1956). — [9] Laughland, D. H., and W. E. Philipps: Canad. J. Biochem. Physiol. **32**, 593, 610 (1954). — [9a] Lettré, H., H. Inhoffen u. R. Tschesche: Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Naturstoffe. F. Enke Verlag, Stuttgart 1954. — [10] Manderscheid, G.: Diss. Frankfurt a. M. 1948. — [11] Mariani, A.: Ist. super. Sanità, Rend. **14**, 725 (1951). — [12] Mayer, A., C. W. Picard u. F. Wokes: Pharmac. Acta Helvetiae **33**, 603 (1958); vgl. diese Z. **172**, 64 (1960). — [13] Shaw, W. H., J. P. Jeffries and T. E. Holt: Analyst **82**, 2 (1957). — [14] Stahl, E.: Pharmazie **11**, 633 (1956); Chemiker-Ztg. **82**, 323 (1958); Parfümerie und Kosmet. **9** (1958); Chromatographie, hrsg. von E. Merck, Darmstadt 1959; vgl. diese Z. **173**, 458 (1960). — [15] Velluz, L., G. Amiard et B. Goffinet: C. R. Acad. Sci. **240**, 2326 (1955). — [16] Velluz, L., G. Amiard et A. Petit: Bull. Soc. chim. France **16**, 501 (1949). — [17] Vogel, H.: Chemie u. Technologie der Vitamine; 3. Aufl., bearb. von H. Knobloch, Bd. I, F. Enke Verlag, Stuttgart 1950. — [18] Wilkie, J. B., S. W. Jones and O. L. Kline: J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **47**, 385 (1958); vgl. diese Z. **166**, 452 (1959). — [19] Windaus, A., u. K. Dimroth: Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 376 (1937).

Prof. Dr. H. Janecke, Frankfurt a. M., Pharmazeutisches Institut der Universität, Georg Voigt-Straße 14

Aus der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung Karlsruhe

Eine spezifische colorimetrische Methode zur Bestimmung der Sorbinsäure*

Von
H. Schmidt

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 19. Juli 1960)

In den letzten Jahren ist eine Reihe verschiedener Methoden zum qualitativen Nachweis und zur quantitativen Bestimmung der Sorbinsäure veröffentlicht worden. Bei diesen Verfahren macht man von der Anwesenheit konjugierter Doppelbindungen in der Sorbinsäuremolekel Gebrauch, sei es, daß man Halogene auf die Säure einwirken läßt, sei es, daß ihr Absorptionsmaximum bei etwa 260 nm gemessen wird, das durch die Doppelbindungen der Sorbinsäure bedingt ist. Auch die wenigen bisher bekannt gewordenen colorimetrischen Verfahren bedienen sich meist des Doppelbindungssystems der Säure insofern, als dieses in den Farbstoff eingebaut wird, der durch Kupplung mit geeigneten Substanzen entsteht.

In der Praxis wird die Sorbinsäure oft spektralphotometrisch nach Melnick u. Luckmann[7] oder einer modifizierten Methode bestimmt. Diese Verfahren zeichnen sich durch hohe Empfindlichkeit aus, da noch 0,4 μg Sorbinsäure je 1 ml Meßlösung eine leicht meßbare Extinktion von $E_{1\,cm} = 0{,}1$ ergeben. Die Empfindlichkeit der Methode beruht auf dem hohen molaren Extinktionskoeffizienten der Sorbinsäure von $\varepsilon = 2{,}6 \cdot 10^4$.

Nachteilig ist jedoch bei den spektralphotometrischen Verfahren, daß im Gebiet der Sorbinsäureabsorption eine große Zahl anderer Substanzen ebenfalls absorbiert, und daß derartige Stoffe bei der Isolierung der Säure aus Lebensmitteln entstehen können, z. B. durch die Art der Wasserdampfdestillation, wie sie Melnick u. Luckmann beschrieben haben. Die Autoren haben daher in einer späteren Veröffentlichung[6] mitgeteilt, daß ihre Methode bei allen Lebensmitteln zu hohe Werte liefert. Sie fanden Sorbinsäuregehalte, die bis 45% über den zugesetzten Mengen lagen. Die höchsten Werte fanden sie in Apfelsaft und Marmeladen. Um die wahren Sorbinsäuregehalte der Lebensmittel feststellen zu können, müssen die Blindwerte der Produkte ohne Sorbinsäurezusatz von den

* Vorgetragen auf der 18. Arbeitstagung des Arbeitskreises Südwestdeutschland der Fachgruppe Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie in der Gesellschaft deutscher Chemiker in Weinheim (Bergstraße) am 19./20. 5. 1960.

Werten der sorbinsäurehaltigen abgezogen werden. Damit wird aber das Verfahren komplizierter, und außerdem stehen oft die entsprechenden unkonservierten Lebensmittel nicht zur Verfügung.

Eine weitere Störung aller spektralphotometrischen Methoden tritt ein, wenn das Lebensmittel neben Sorbinsäure noch andere Konservierungsstoffe enthält, die nahe bei 260 nm absorbieren, wie z.B. die wasserdampfflüchtigen Parahydroxybenzoesäureester (PHB). Wohl haben Alderton u. Lewis[1] die spektralphotometrische Methode durch Verwendung einer Kjeldahl-Apparatur für die Wasserdampfdestillation und durch Messen der Extinktion in 0,01 n Schwefelsäure verbessert, doch bleibt die Störung durch andere Konservierungsstoffe auch bei ihrer Methode bestehen. Das gleiche gilt für die modifizierten spektralphotometrischen Methoden von Hardon u. Visser[4], von Onrust[8] und von Diemair u. Franzen[3]. Auch das bromometrische Verfahren von Spanyár u. Sándor[12] wird nach Angabe der Autoren durch andere Brom verbrauchende Konservierungsstoffe gestört, wie z.B. durch Parahydroxybenzoesäureester (PHB) oder Salicylsäure. Die colorimetrischen Verfahren werden meist nicht durch andere Konservierungsstoffe beeinflußt. Dies gilt z.B. für die beiden Methoden von Hardon u. Visser[4] mit Hydrochinon und Jodmonochlorid. Die erste soll jedoch nach Angaben der Autoren mehr zum qualitativen Nachweis der Sorbinsäure geeignet sein, und bei der zweiten muß die Probe 24 Std lang im Dunkeln stehen. Die kürzlich veröffentlichte Methode von Diemair u. Franzen[3], bei der aus Sorbinsäureanhydrid und Benzthiazol ein grüner Pentamethinfarbstoff entsteht, wird zwar ebenfalls nicht durch andere Konservierungsstoffe gestört, ist aber doch in der Durchführung recht aufwendig.

So fehlt trotz dieser ansehnlichen Zahl bereits bekannter Methoden dennoch ein einfaches Verfahren, das möglichst die hohe Empfindlichkeit der spektralphotometrischen Methode und eine noch größere Spezifität aufweisen sollte. Wir hoffen, daß unsere neue colorimetrische Methode diesen Anforderungen gerecht wird. Im folgenden sollen die Entwicklung und Durchführung der Colorimetrie, die Vor- und Nachteile der Methode sowie die quantitative Wasserdampfdestillation der Sorbinsäure beschrieben werden.

Entwicklung der Methode

Aus der Literatur ist bekannt, daß autoxydierte Sorbinsäure genau wie andere mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit Thiobarbitursäure (TBS) einen roten Farbstoff bildet[6], dessen Absorptionsmaximum in saurer Lösung bei 532 nm liegt. Daraus geht hervor, daß aus Sorbinsäure durch Autoxydation unter anderem Malondialdehyd entsteht, da nur dieser mit TBS einen roten Farbstoff mit dem genannten Maximum ergibt. Im Rahmen unserer Arbeiten über die Thiobarbitursäure-Zahl (TBZ)[9] und die TBS-Methinfarbstoffe[10] stellten wir fest, daß Sorbinsäure

nicht nur durch Luftsauerstoff, sondern auch mit Hilfe angesäuerter Kaliumdichromatlösung teilweise zu Malondialdehyd oxydiert wird und dann mit TBS den gleichen Farbstoff bildet. Es lag also nahe, diese Reaktion für den Nachweis und die Bestimmung der Sorbinsäure zu verwenden. Wir oxydierten Sorbinsäure mit saurer Dichromatlösung in der Wärme, gaben TBS zu und erhitzten weiter. Dabei ergab sich eine lineare Abhängigkeit zwischen steigenden Sorbinsäuremengen und den Extinktionswerten der entstandenen Farbstofflösungen. Damit war die Grundlage für die neue colorimetrische Methode geschaffen, deren Durchführung im folgenden beschrieben wird.

Beschreibung der Methode

Je nach dem Sorbinsäuregehalt werden 1—5 g des Lebensmittels in das Destilliergefäß gegeben und mit 5—10 ml 1 n Schwefelsäure und 5—10 g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ versetzt. Dann wird Wasserdampf in das Destillationsgefäß eingeleitet und so lange destilliert, bis etwa 100 ml übergegangen sind. Das Destillat wird mit Wasser auf 250 ml aufgefüllt. Von dieser Lösung werden 2 ml in einem unten zugeschmolzenen Glasrohr mit 2 ml einer Mischung aus gleichen Teilen 0,3 n Schwefelsäure und 0,01 n Kaliumdichromatlösung versetzt und 5 min lang im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dieser Zeit gibt man 2 ml 0,5%ige Thiobarbitursäurelösung zu, beläßt weitere 10 min im Wasserbad (Abb. 1), kühlt unter fließendem Wasser und mißt die Extinktion der roten Lösung im Elko II mit Filter S 53 E gegen eine

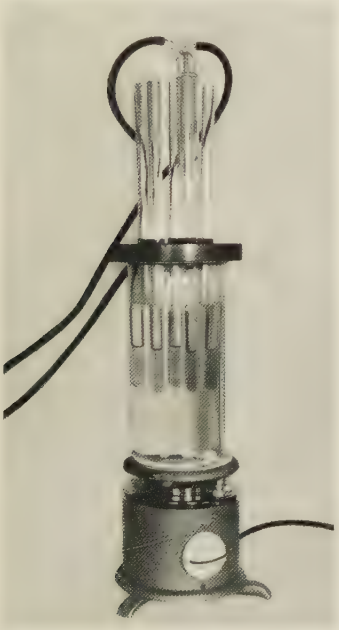


Abb. 1. Wasserbad mit eingetauchten Glasrohren, die rotgefärbte Lösungen unterschiedlicher Sorbinsäurekonzentrationen enthalten. Das Wasserbad besteht aus einem oben plangeschliffenen 2 l-Becherglas, auf dem eine durchbohrte Bleiplatte ohne Dichtungsring liegt

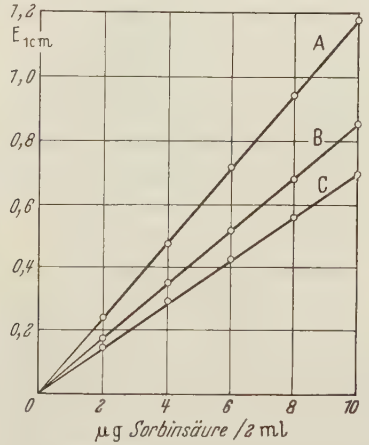


Abb. 2. *Sorbinsäure-Eichgeraden. A* $E_{1\,cm}$ von Sorbinsäure in 0,01 n Schwefelsäure, gemessen im Spektralphotometer Unicam Sp 500 bei 263 nm. *B* $E_{1\,cm}$ des Farbstoffs aus oxydierter Sorbinsäure und Thiobarbitursäure, gemessen im Spektralphotometer Unicam Sp 500 bei 532 nm. *C* $E_{1\,cm}$ des Farbstoffs aus oxydierter Sorbinsäure und Thiobarbitursäure gemessen im Elko II mit Filter S 53 E

Blindprobe. Da dieBlindprobe unter den geschilderten Bedingungen stets den gleichen Wert ergibt, kann auch gegen Wasser gemessen werden und der Blindwert in Höhe von 0,02 E von der Extinktion abgezogen werden. Über eine Eichgerade wird der Sorbinsäuregehalt bestimmt.

Abb. 2 zeigt drei verschiedene Eichgeraden. Gerade A wurde mit reiner Sorbinsäure spektralphotometrisch bei 263 nm aufgenommen, Gerade B durch Spektralphotometrieren der aus oxydierter Sorbinsäure und Thiobarbitursäure entstandenen Farbstofflösungen bei 532 nm und Gerade C durch Colorimetrieren der gleichen Lösungen im Elko II mit Filter S 53 E. Aus der Abb. 2 ist ersichtlich, daß das neue colorimetrische Verfahren (532 nm) nahezu ebenso empfindlich ist wie das spektralphotometrische (263 nm). Der hohe molare Extinktionskoeffizient[10] des gebildeten Farbstoffes von $\varepsilon = 156000$ bedingt die hohe Empfindlichkeit der Methode. 1 μg Sorbinsäure je Milliliter Lösung ist quantitativ bestimmbar, geringere Mengen können noch qualitativ nachgewiesen werden.

Vor- und Nachteile der Methode

Da die spektralphotometrischen Methoden, wie schon erwähnt, in der Praxis oft angewendet werden, erscheint es angebracht, die Vor- und Nachteile des hier beschriebenen colorimetrischen Verfahrens gegenüber den spektralphotometrischen aufzuzeigen.

1. Wegen der hohen Spezifität der Methode wird sie durch keinen anderen in der Bundesrepublik zugelassenen Konservierungsstoff gestört.

2. Da die Meßlösung rot gefärbt ist, kann sie im Colorimeter und in Glasküvetten gemessen werden statt im Spektralphotometer und in Quarzküvetten. Zur halbquantitativen Bestimmung genügt ein visueller Vergleich mit Eichlösungen, wie sie zum Aufstellen der Eichgeraden benötigt werden.

3. Zum qualitativen Nachweis der Sorbinsäure ist kein Meßinstrument erforderlich, da die Testlösung noch bei Konzentrationen von weniger als 0,1% Sorbinsäure von farblos nach kräftig rot umschlägt. In vielen Fällen — bei wenig oder gar nicht gefärbten Lebensmitteln — kann der Nachweis innerhalb weniger Minuten durchgeführt werden, wie z. B. bei Margarine, Fleischsalat, Mayonnaise, Gurken und anderem.

4. Wie eingehende Untersuchungen über die Wasserdampfdestillation gezeigt haben, ist es möglich, die Sorbinsäure innerhalb 10—15 min praktisch 100%ig mit Wasserdampf überzutreiben und damit vollständig zu erfassen.

5. Eine quantitative Bestimmung dauert einschließlich Destillation und Colorimetrie nur etwa 1 Std.

6. Es genügt ein Zusatz von 5—10 g $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ je Destillation.

An Hand einiger Beispiele sollen die unter 1. und 3. aufgeführten Vorteile noch deutlicher herausgestellt werden.

Zu 1.: Nach Anlage 3 zur neuen Konservierungsstoff-Verordnung ist bei vielen Lebensmitteln, die mit Sorbinsäure konserviert werden dürfen, zusätzlich die Verwendung von Benzoesäure und von p-Hydroxybenzoesäureestern gestattet. Es ist also in der Praxis damit zu rechnen, daß Lebensmittel neben Sorbinsäure auch beispielsweise p-Hydroxybenzoesäurepropylester enthalten. Dieser Konservierungsstoff wurde herausgegriffen, weil er leicht wasserdampfflüchtig ist wie die Sorbinsäure und sein Absorptionsmaximum in 0,01 n Schwefelsäure bei 256 nm liegt, also sehr nahe bei dem der Sorbinsäure. Es ist vorauszusehen, daß bei gleichzeitiger Anwesenheit beider Konservierungsstoffe in einem Lebensmittel der Sorbinsäuregehalt, wenn er spektralphotometrisch bei etwa 260 nm bestimmt wird, zu hoch

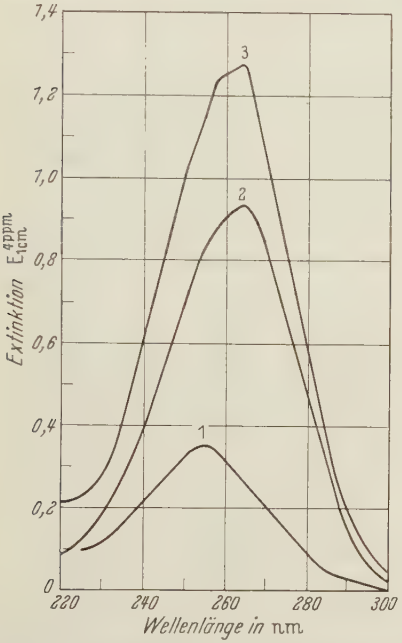


Abb. 3. Absorptionsspektren der Wasserdampfdestillate von p-Hydroxybenzoesäurepropylester (*1*), Sorbinsäure (*2*) und der Mischung beider Konservierungsstoffe (*3*)

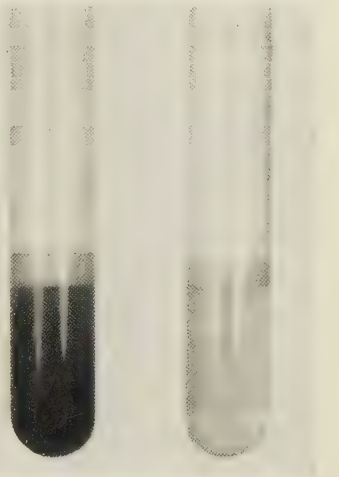


Abb. 4. Qualitativer Nachweis von Sorbinsäure in Margarine. Links Margarine mit 0,025% Sorbinsäure, rechts Margarine ohne Sorbinsäure

ausfällt. Es wurden daher in unserer Apparatur einmal die beiden Konservierungsstoffe gemeinsam und auch einzeln mit Wasserdampf überdestilliert und die UV-spektren der Destillate aufgenommen. Abb. 3 zeigt, daß der Sorbinsäuregehalt um etwa 37% zu hoch gefunden wurde. Bestimmte man dagegen den Gehalt an Sorbinsäure im Destillat der gemeinsam destillierten Konservierungsstoffe nach dem neuen colorimetrischen Verfahren, so konnten 99,5% der vorgelegten Sorbinsäure wiedergefunden werden.

Auch Ameisensäure stört in den geringen, für die Konservierung von Lebensmitteln zugelassenen Konzentrationen die colorimetrische Bestimmung der Sorbinsäure nicht. Größere Mengen Ameisensäure ergeben jedoch mit TBS einen gelben Farbstoff, dessen Absorptionsmaximum bei 452 nm liegt[10]. Wir sind zur Zeit bemüht, aus dieser Reaktion eine Methode zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung der Ameisensäure zu entwickeln.

Zu 3.: Abb. 4 zeigt den qualitativen Nachweis von 0,025% Sorbinsäure in Margarine. Im linken Glas wurde Margarine mit, im rechten Margarine ohne Sorbinsäure getestet. Dauer des Testes etwa 3 min.

Nachteilig ist bei der neuen Methode, daß der Sorbinsäuregehalt alkoholischer Lebensmittel bisher noch nicht bestimmt werden kann, da der Alkohol mit überdestilliert und später die Oxydation der Sorbinsäure mit Kaliumdichromat stört. Es wird versucht, die Methode so zu modifizieren, daß die Sorbinsäure auch in alkoholischen Getränken, wie z. B. in gesüßten oder natursüßen Weinen, bestimmt werden kann.

Die quantitative Wasserdampfdestillation der Sorbinsäure

In den bereits veröffentlichten Arbeiten über die Bestimmung der Sorbinsäure sind nur wenige Angaben über Schwierigkeiten gemacht worden, die bei der Wasserdampfdestillation auftreten können. Als wir jedoch einige der beschriebenen Verfahren nacharbeiteten, stellten wir in Übereinstimmung mit Onrust[8] fest, daß keineswegs immer 100% der vorgelegten Sorbinsäure übergingen, wie manche Autoren[3,6] behaupten, sondern oft nur 80—90%. Dies traf besonders bei den Methoden zu, bei denen die Sorbinsäure nicht mit Hilfe von eingeblasenem Wasserdampf, sondern durch ein- oder mehrmaliges Eindampfen des Kolbeninhalts überdestilliert wurde.

Wir nahmen zunächst genau wie Melnick u. Luckmann[7] an, daß ein Teil der Sorbinsäure während der Wasserdampfdestillation oxydiert oder anderweitig der Bestimmung entzogen wird. Wir prüften dann diese Annahme nach, indem wir die Wasserdampfdestillation so durchführten,

Tabelle 1. *Wasserdampfdestillation von Sorbinsäure*

Destillationsmethode	Destillatmenge in ml	Sorbinsäuregehalt im Destillat %	Sorbinsäuregehalt im Dest.-Kolben %	Sorbinsäuregehalt Gesamt %
Vereinfachte Wasserdampf-Destillation (Kolben direkt erhitzt)	90	68,0	32,3	100,3
	190	84,3	15,7	100,0
	290	84,1	16,1	100,2
	290	79,2	21,5	100,7
Normale Wasserdampf-Destillation (Wasserdampf in Kolben eingeblasen)	250	89,5	10,4	99,9
	250	92,5	7,0	99,5
	250	86,7	13,4	100,1
	500	97,7	1,2	98,9

daß der Sorbinsäuregehalt des Kolbenrückstandes nach der Destillation in genau der gleichen Weise wie der des Destillates spektralphotometrisch gemessen werden konnte. Dabei stellte sich heraus, daß die im Destillierkolben zurückgebliebene Sorbinsäuremenge zusammen mit der überdestillierten stets nahezu 100% der vorgelegten Menge ergab, wie aus Tab. 1 hervorgeht. Damit war bewiesen, daß während des Destillierens keine nennenswerten Mengen von Sorbinsäure oxydiert werden.

Um die Sorbinsäure schneller und vollständiger mit Wasserdampf überzutreiben, werden oft erhebliche Mengen von Salzen — beispielsweise

bis zu 100 g Magnesiumsulfat pro Bestimmung[1,3] — in den Destillierkolben gegeben. Beim Einleiten von nicht überhitztem Wasserdampf kann der Kolbeninhalt auch bei Anwesenheit großer Salzmengen nicht auf Temperaturen ansteigen, die über 100° C liegen. Wird jedoch der Kolbeninhalt zum Übertreiben der Sorbinsäure ein- oder mehrmals bis fast zur Trockne eingedampft, so können besonders bei Anwesenheit größerer Salzmengen so hohe Temperaturen auftreten, daß manche Lebensmittelbestandteile, wie z. B. Zucker und andere Kohlenhydrate, bereits zersetzt werden[4]. Dabei entstehen unter anderem wasserdampfflüchtige Stoffe, wie Hydroxymethylfurfurol, dessen Absorptionsmaximum bei 282 nm liegt, also nahe beim Maximum der Sorbinsäureabsorption. Man geht daher wohl nicht fehl in der Annahme, daß die überhöhten Sorbinsäurewerte nach der Methode von Melnik u. Luckmann besonders bei zuckerreichen Lebensmitteln, wie Apfelsaft und Marmelade, überwiegend auf der Bildung von Hydroxymethylfurfurol beruhen. Auf Grund dieser Erkenntnisse haben Hardon u. Visser[4] die spektralphotometrische Methode dahingehend modifiziert, daß sie die Sorbinsäure durch Einblasen von Wasserdampf übertrieben. Die dann noch verbleibenden Blindwerte des Wasserdampfdestillats reduzierten sie durch teilweises Eindampfen nach Sodazugabe bis fast auf Null. Doch fanden auch sie im Durchschnitt nur 90—95% der den Lebensmitteln zugesetzten Sorbinsäure wieder.

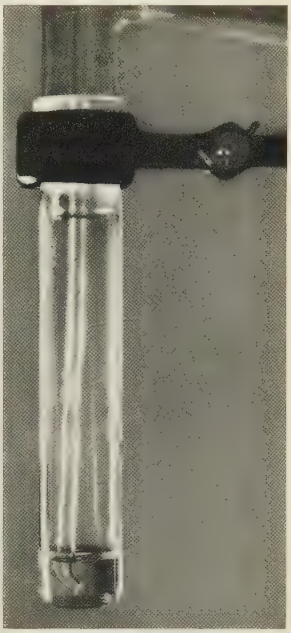


Abb. 5. Destilliergefäß mit Dampfeinleitungsrohr

Nun kann aber die Wasserdampfdestillation leicht so durchgeführt werden, daß die Sorbinsäure bei Destillatmengen von 50—100 ml praktisch vollständig übergetrieben wird. Dazu ist einerseits erforderlich, daß das die Sorbinsäure enthaltende Flüssigkeitsvolumen möglichst klein gewählt wird und sich während der Destillation möglichst nicht vergrößert, wie aus theoretischen Überlegungen abgeleitet werden kann. Darüber soll an anderer Stelle berichtet werden. Andererseits soll das Volumen des Destilliergefäßes nicht größer als 50—100 ml sein. Am besten haben sich zylindrische Destilliergefäße mit handelsüblichen Hülsenschliffen NS 29 mit flachem Boden von knapp 100 ml Inhalt und etwa 30 mm ⌀ bewährt (Abb. 5). Zu ähnlichen Erkenntnissen kamen in jüngster Zeit Antonacopoulos[2] und Hughes[5].

Um das Flüssigkeitsvolumen im Destilliergefäß während der Destillation möglichst klein zu halten, kann das Gefäß durch eine kleine Flamme zusätzlich erhitzt werden (siehe Abb. 6). Man kann aber auch das Destilliergefäß in den Dampfentwicklungskolben einsetzen, wie aus Abb. 7 hervorgeht. Diese Anordnung ist vorteilhaft, weil das Destilliergefäß zum größten Teil von siedendem Wasser und von Wasserdampf umgeben ist und beheizt wird, so daß wenig Kondensat entsteht. Um

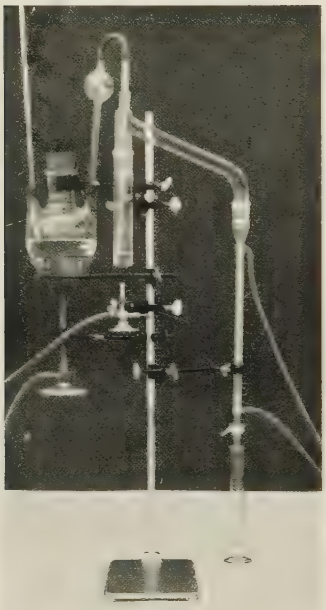


Abb. 6. Apparatur zur Wasserdampfdestillation von Sorbinsäure. Links Wasserdampfentwicklungskolben, in der Mitte durch Mikrobrenner beheizbares Destilliergefäß

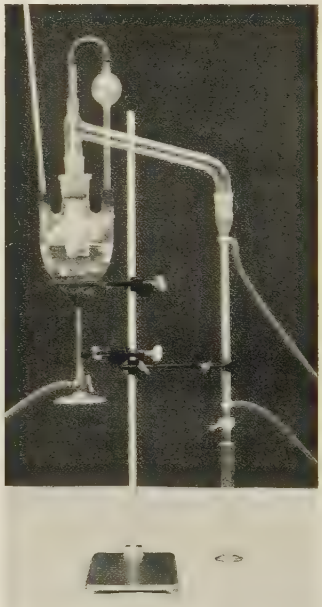


Abb. 7. Apparatur zur Wasserdampfdestillation von Sorbinsäure. Destilliergefäß in den Dampfentwicklungskolben eingesetzt

die Kondenswassermenge im Destilliergefäß noch weiter zu reduzieren, kann dem Wasser im Dampfentwicklungskolben ein Salz zugesetzt werden, wie z. B. $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ oder $CaCl_2$, so daß der Siedepunkt der Salzlösung und die Temperatur des entweichenden Dampfes auf beispielsweise 105° C erhöht werden.

Zur Prüfung des Destillationsverlaufes der Sorbinsäure haben wir 1,34 mg Kaliumsorbat — entsprechend 1,00 mg Sorbinsäure — in 5 ml 1 n Schwefelsäure gelöst und unter Zusatz von 5 g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ in unserer Apparatur mit Wasserdampf überdestilliert. Die Destillatmenge von 100 ml haben wir in 10 Fraktionen zu je 10 ml aufgefangen und von

jeder Fraktion den Sorbinsäuregehalt spektralphotometrisch bestimmt. Trägt man die übergegangenen Sorbinsäuremengen über den Destillatmengen graphisch auf, so erhält man die aus Abb. 8 ersichtlichen Kurven. Kurve *a* gibt einen Destillationsverlauf wieder, bei dem sich das Destilliergefäß im Dampfentwicklungskolben befand und das Flüssigkeitsvolumen im Destilliergefäß sich während der Destillation etwa verdoppelte. Bei

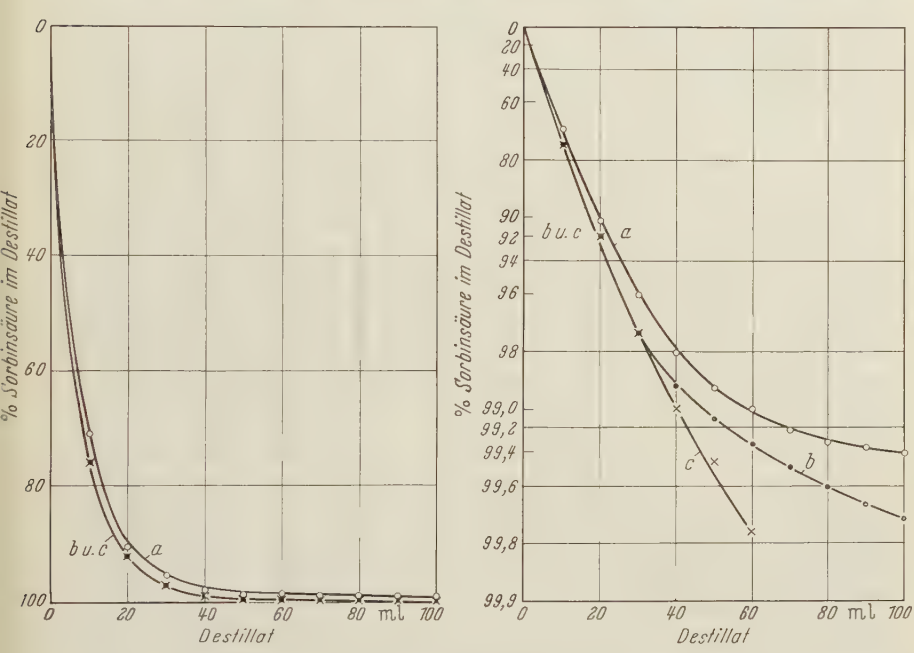


Abb. 8. Wasserdampfdestillation von Sorbinsäure. Übergangene Sorbinsäuremenge in Abhängigkeit von der Destillatmenge

den Kurven *b* und *c* wurde das Destilliergefäß mit einer Sparflamme erhitzt und das Flüssigkeitsvolumen im Destilliergefäß blieb daher während der gesamten Destillation konstant. In allen Fällen sind mit den ersten 20 ml Destillat mehr als 90% der vorgelegten Sorbinsäure übergegangen und mit den ersten 40—60 ml bereits 99%. Um die Sorbinsäure praktisch vollständig überzutreiben, braucht man also nur so lange zu destillieren, bis etwa 100 ml Destillat übergegangen sind. Da die im halblogarithmischen Maßstab aufgetragenen Kurven nahezu geradlinig verlaufen, geht die Sorbinsäure unter den hier geschilderten Versuchsbedingungen gesetzmäßig nach einer Exponentialfunktion über bzw. nimmt die Sorbinsäurekonzentration im Destilliergefäß während der Destillation nach einer Exponentialfunktion ab.

Meßergebnisse

Da Sorbinsäure als Konservierungsstoff zur Zeit dieser Untersuchungen noch nicht in großem Umfang verwendet wurde, war es schwierig, sorbinsäurehaltige Lebensmittel zu beschaffen. In Tab. 2 sind einige Ergebnisse wiedergegeben, die wir bei der Bestimmung von Sorbinsäure in Lebensmitteln mit der neuen Methode erzielt haben. Bei den im oberen Teil der Tab. 2 aufgeführten Lebensmitteln konnten wir die vom Hersteller zugesetzten Sorbinsäuremengen nicht in Erfahrung bringen und mußten uns daher auf den Vergleich der spektralphotometrisch und colorimetrisch gemessenen Werte beschränken. Um aber auch Absolutmengen

Tabelle 2. *Sorbinsäuregehalt von Lebensmitteln*

Lebensmittel	zugesetzte Sorbinsäuremenge in Promille	gefundene Sorbinsäuremenge in Promille: spektralphotometr. bei 263 nm	gefundene Sorbinsäuremenge in Promille: colorimetrisch bei 532 nm	Bemerkungen
Margarine	unbekannt	0,269	0,269	Vom Lebensmittelhersteller konserviert
Fleischsalat	unbekannt	0,665	0,666	
Sauerkirsch-Muttersaft	unbekannt	0,052	0,050	
Johannesbeersaft	unbekannt	0,907	0,884	
Gewürzgurken				
a) Aufgußlösung	unbekannt	0,219	0,216	
b) Gurken	unbekannt	0,243	0,243	
Margarine	1,000	0,997	1,000	Sorbinsäure den Lebensmitteln in der Bundesforschungsanstalt zugesetzt
Fleischsalat	1,000	0,992	1,013	
Apfelsaft	1,000	1,010	0,995	
Orangenmark mit 0,2% SO_2	1,000	1,004	0,982	
Senf	1,000	1,003	0,993	
Meerrettich	1,000	0,996	0,984	

von Sorbinsäure zu bestimmen, haben wir auf je 1 g der im unteren Teil der Tab. 2 angegebenen Lebensmittel, die nicht konserviert waren, 1 mg Sorbinsäure als Kaliumsorbat zugesetzt und diese Menge bestimmt.

Arbeitsanleitung

1. Qualitativer Nachweis der Sorbinsäure

Etwa 1 g des wenig oder gar nicht gefärbten, alkoholfreien Lebensmittels wird im Reagensglas mit einigen Millilitern verdünnter Schwefelsäure (0,5—1,0 n H_2SO_4) und 1—2 ml 0,01 n Kaliumdichromatlösung kurz bis zum Aufsieden erhitzt. Darauf gibt man eine Spatelspitze feste Thiobarbitursäure (20—30 mg) oder einige Milliliter einer etwa 0,3%igen wäßrigen Thiobarbitursäurelösung zu und erhitzt die Mischung einige Minuten über dem Brenner zum Sieden. Eine während der zweiten Erhitzungsperiode auftretende Rotfärbung beweist die Anwesenheit von Sorbinsäure. Der Nachweis kann auch mit den bei der quantitativen Bestimmung beschriebenen Reagentienmengen durchgeführt werden.

2. Quantitative Bestimmung der Sorbinsäure

Reagentien. Zum Aufstellen der Eichgeraden kann *Sorbinsäure* oder besser *Kaliumsorbat* verwendet werden, da dieses leichter rein herzustellen, leichter in Wasser löslich und haltbarer ist als Sorbinsäure. Kaliumsorbat soll vor der Benutzung im Trockenschrank bei 105° C oder im Exsiccator über konz. Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet werden, sofern sein Feuchtigkeitsgehalt nicht von vornherein unter 0,1% liegt. Sorbinsäure wird wegen ihrer Sublimierbarkeit nur im Exsiccator getrocknet.

0,5%ige Thiobarbitursäure-(TBS)-lösung. 0,5 g TBS (Fa. Th. Schuchardt, München oder Fa. Fluka, Buchs/SG, Schweiz) wird in etwa 20 ml Wasser und 10 ml 1 n NaOH-Lösung unter Umschwenken gelöst. Die Lösung wird in einem 100 ml-Meßkolben mit 11 ml 1 n Salzsäure versetzt und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Für genaue Messungen sollte die TBS-Lösung täglich neu hergestellt werden.

Ferner werden benötigt. 1 n und 0,3 n Schwefelsäure, 0,01 n $K_2Cr_2O_7$-Lösung und $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ (von letzterem DAB 6-Reinheitsgrad nicht erforderlich).

Wasserdampfdestillation. In das Destilliergefäß von maximal 100 ml Inhalt wird so viel von der gründlich durchgemischten und erforderlichenfalls homogenisierten Lebensmittelprobe eingewogen (meist 1—5 g), daß etwa 0,5—1,0 mg Sorbinsäure darin enthalten sind. Dazu werden 5 bis höchstens 10 ml 1 n Schwefelsäure und 5 bis höchstens 10 g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ gegeben. Meist werden je 5 ml bzw. 5 g ausreichen. Zu flüssigen Lebensmitteln, z. B. alkoholfreien Säften, wird so viel Schwefelsäure höherer Normalität zugegeben, daß eine etwa 1 n schwefelsaure Lösung resultiert. Dann wird so lange Wasserdampf in das Destilliergefäß eingeblasen (10—15 min lang), bis etwa 100 ml Destillat übergegangen sind. Wird der Kühler sauber (fettfrei) gehalten, so braucht er nach der Destillation nicht gespült zu werden. Das Destillat wird mit Wasser auf 250 ml aufgefüllt.

Colorimetrie. 2 ml des aufgefüllten Destillats gibt man in ein unten zugeschmolzenes Glasrohr von etwa 35 cm Länge und etwa 13 mm Innendurchmesser, setzt 2 ml einer Mischung gleicher Teile 0,01 n Kaliumdichromatlösung und 0,3 n Schwefelsäure zu und erhitzt Rohr mit Inhalt genau 5 min lang im siedenden Wasserbad. Darauf versetzt man mit 2 ml 0,5%iger Thiobarbitursäurelösung und beläßt das Rohr weiter genau 10 min lang im Wasserbad. Dann wird das Rohr unter fließendem Wasser abgekühlt und die Extinktion der rotgefärbten Lösung (Absorptionsmaximum bei 532 nm) im Colorimeter, z. B. Elko II mit Filter S 53 E, gemessen.

Aufstellen der Eichgeraden. 134 mg Kaliumsorbat werden im Meßkolben in 1 l Wasser gelöst. 50 ml dieser Lösung 1 werden entnommen und in einem weiteren Meßkolben auf 1 l aufgefüllt (Lösung 2). Von Lösung 2 werden 0,4, 0,8, 1,2, 1,6, 2,0 ml in 5 Glasröhren gegeben und die ersten 4 Portionen mit Wasser auf 2 ml aufgefüllt. In den 5 Röhren sind dann 2, 4, 6, 8 und 10 μg Sorbinsäure je 2 ml Lösung enthalten. Diese 5 Eichlösungen werden wie oben angegeben weiterbehandelt. Als Eichkurve erhält man eine Gerade.

Berechnung. Die Berechnung des Sorbinsäuregehaltes erfolgt entweder über die vom Untersuchenden selbst aufgestellte Eichgerade oder mit Hilfe folgender Formeln bei Verwendung des Elko II, Filter S 53 E: mg-% Sorbinsäure $= 181\,e/dA$, bzw. bei Verwendung eines Spektralphotometers, gemessen bei 532 nm: mg-% Sorbinsäure $= 147\,e/dA$ (e = gemessene Extinktion; d = Schichtdicke in Zentimeter; A = Einwaage in Gramm).

Zusammenfassung

Es wird eine einfache Methode zur schnellen Bestimmung (1 Std) von Sorbinsäure in Lebensmitteln beschrieben. Die Sorbinsäure wird durch Wasserdampfdestillation verlustlos vom Lebensmittel abgetrennt und im

Destillat mit saurer Kaliumdichromatlösung oxydiert. Dabei entsteht unter anderem Malondialdehyd, der mit Thiobarbitursäure einen beständigen roten Farbstoff bildet, dessen Absorptionsmaximum bei 532 nm liegt. Die rote Lösung wird colorimetriert, und über eine Eichgerade, die mit 2—10 μg Sorbinsäure aufgestellt worden ist, wird der Gehalt an Sorbinsäure bestimmt. Die Methode wird durch keinen der üblichen Konservierungsstoffe gestört. Verschiedenen Lebensmitteln zugesetzte Sorbinsäuremengen wurden zu 100 $\pm$ 2% wiedergefunden. Der qualitative Nachweis kann in vielen Lebensmitteln ohne Destillation innerhalb weniger Minuten visuell durchgeführt werden.

Meinem Assistenten, Herrn F. Nagel, sei für die gewissenhafte Durchführung einer großen Zahl von Versuchen aufrichtig gedankt.

Wir danken ferner der Fa. Rostock Gebrüder Friedrich Söhne, Elmshorn/Holstein, für die Überlassung von Margarineproben mit Sorbinsäure und den Hoechster Farbwerken für die Bereitstellung verschiedener sorbinsäurehaltiger Lebensmittel.

Literatur

[1] Alderton, G., u. J. C. Lewis: Food Res. **23**, 338 (1958). — [2] Antonacopoulos, N.: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch., im Druck. — [3] Diemair, W., u. K. Franzen: diese Z. **166**, 246, 325 (1959). — [4] Hardon, H. J., u. D. Visser: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **108**, 397 (1958); vgl. diese Z. **169**, 201 (1959). — [5] Hughes, R. B.: J. Sci. Food Agric. **11**, 47 (1960). — [6] Luckmann, F. H., u. D. Melnick: Food Res. **20**, 649 (1955); vgl. diese Z. **154**, 305 (1957). — [7] Melnick, D., u. F. H. Luckmann: Food Res. **19**, 20 (1954). — [8] Onrust, H.: Chem. Weekbl. **54**, 498 (1958); vgl. diese Z. **167**, 369 (1959). — [9] Schmidt, H.: Fette u. Seifen **61**, 127 (1959); vgl. diese Z. **173**, 169 (1960). — [10] Schmidt, H.: Naturwissenschaften **46**, 379 (1959); Fette u. Seifen **61**, 881 (1959). — [11] Sinnhuber, R. O., T. C. Yu u. T. C. Yu: Food Res. **23**, 626 (1958). — [12] Spanyár, P., u. A. Sándor: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **108**, 402 (1958); vgl. diese Z. **171**, 133 (1959/60).

Dr. H. Schmidt, Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung, Karlsruhe, Kaiserstraße 12

The National Research Center, Dokki, Cairo (Egypt, U.A.R.)

The Acid-Base Properties of Solochrome Violet R. S.

Part I

By

H. Khalifa and S. W. Bishara

With 7 Figures in the Text

(Received August 16, 1960)

The modern development in the branch of chelatometry have increased the desire for the discovery of new metal indicators, either of the metallochromic type used in EDTA titrations or the chromophoric type used

as colorimetric reagents. The formation of fairly stable coloured complex compounds of solochrome violet R.S. with the cations of vanadium and molybdenum, together with its behaviour towards changes of p_H, have created much interest for studying the acid-base properties of this indicator. Such a study based on the phenomena and processes taking place as the acidity is progressively changed will throw much light on its metal chelates and hence its indicator properties and mechanism of action. Such chelates will be investigated in the course of the study on the use of the above indicator as a new colorimetric reagent for the micro-determination of vanadium and molybdenum.

The dye under investigation satisfies the chief requirements of a chromophoric indicator, in that it is a specific reagent for only the two above cations and in that it forms with both of them purple coloured complexes in comparison with the orange colour of the dye developed at an acidic p_H.

Owing to the great similarity in composition between solochrome violet R.S. (1-azometahydroxy-naphthyl 2-hydroxybenzene 5-sulphonic acid) and fast grey R.A.[8] (1-azometahydroxy-naphthyl 2-hydroxy 3-nitrobenzene 5-sulphonic acid), it was the aim of this investigation to study the acid-base properties of the former and to compare between its behaviour and that of the latter in order to observe the influence of the nitro-group on the behaviour of such type of compounds. One of the features of fast grey R.A. which seems to be related to the presence of the nitro-group may be that it is less specific than the dye under investigation, the former being used as a reagent for the micro-determination of vanadium[5], molybdenum[2], zirconium[4], bismuth[3], and copper[7], and further that the colored chelates of fast grey R.A. are more stable in comparison with those of solochrome violet R.S. Such a difficulty could be overcome by addition of hydroxylamine-hydrochloride to the reagents in presence of which the color of the vanadiumdye complex is developed, where it remains unchanged for about two hours.

The procedures applied for such a study were essentially the same as those used in studying the acid-base properties of fast grey R.A.[8] and Solochrome Green V[1]. In order to test the feasibility of applying the dye under investigation as an acid-base indicator we carried out a great number of volumetric titrations using solutions of different normalities between 0.01 and 0.1 of several acids including the mineral, the mono, di- and tricarboxylic acids and the corresponding normalities of standard sodium hydroxide solution, in presence of few drops of 0.05 per cent dye solution. For the sake of comparison the above acids were all standardized either volumetrically against sodium hydroxide solutions in presence of the suitable well known indicators or potentiometrically using the glass electrode for detecting the equivalence points.

Experimental

0.001 M dye solution is prepared by dissolving 0.0345 g of the powdered product (Mol Wt. 344.4) into 100 ml of bidistilled water.

4.10^{-5} M dye solution is prepared by diluting 1 ml of 0.001 M dye solution with water up to 25 ml after addition of 10 ml of the desired buffer solution.

0.01 M sodium hydroxide solution is prepared by dilution of a standard more concentrated solution.

The acidic buffer solutions[7] consisted of sodium acetate-hydrochloric acid mixtures (p_H 1—5). *The alkaline buffer solutions* consisted of ammonium chloride-ammonium hydroxide mixtures (p_H 8—11).

The buffer solutions of p_H values 6—7.5 consisted of potassium dihydrogen phosphate—sodium hydroxide mixtures.

The absorbance measurements were carried out using 4.10^{-5} M dye solutions of different p_H values by the aid of a Universal Coleman Spectrophotometer Model 14, using pure water as the blank.

0.01—0.1 N hydrochloric, nitric, sulphuric, acetic, oxalic, tartaric and phosphoric acid solutions were prepared and standardized according to the recommended procedures.

Potentiometric Titration of Solochrome Violet R.S.

20 ml of 0.001 M dye solution were allowed to pass slowly through a Dowex 50 Dow Chemical Company U.S.A. cation exchange resin column 18 cm long and 15 mm in diameter which was previously treated with 1:3 hydrochloric acid solution and thoroughly washed with water. The orange red colored solution of the sodium salt of the dye no longer persisted and the elute left the column with a pure deep orange color (exactly of the same color as the elute of fast grey R.A. obtained under the same conditions) to a 100 ml measuring flask. The column was then washed with water and the volume was made with the washings up to the mark. After mixing well the solution (2.10^{-4} M), 25 ml portions were titrated against 0.01 M sodium hydroxide solution using the glass electrode for detecting the equivalence points. The potentiometer used, the titration vessel and the microburette were essentially the same as those previously used[8].

The p_H values at each alkali addition were determined by aid of a p_H meter type Radiometer Copenhagen with glass and calomel electrodes, in the course of titrating 25 ml portions of the above elute against the same alkali hydroxide solution.

Results and Discussion

The titration curve representing the neutralisation of 25 ml of 2.10^{-4}M dye solution in the acid form against 0.01 M sodium hydroxide solution (Fig. 1) exhibits two steps of neutralisation, the first of which, is attended with a sharp inflection amounting to 78 mv per 0.1 ml titrant and the second step which is represented by a less steep jump is moderately weak.

The first step corresponds to the neutralisation of the sulphonic acid group and the second to one of the phenolic groups, the second phenolic group being unrepresented by a distinct region on the curve. That the change in color from distinct orange to distinct orange red just after addition of the alkali amount required to establish the first inflection (0.55 ml 0.01 M NaOH) is a proof that the sulphonic acid group is responsible for this acid base color change which occurs at a p_H value of ~ 6.

Further, the second acid base region of the change in color from orange red to pure violet after addition of about 0.90 ml NaOH solution (p_H 7.62) is a proof that the phenolic group attached to the benzene nucleus is the responsible one for this acid base color change, since it is a well known fact that the sulphonic acid group in para position to the phenolic one is a powerful electron attracting agent which supports the dissociation of the OH group and hence its more pronounced acid properties than ordinary phenolic groups. This is in harmony with the magnitude of the second

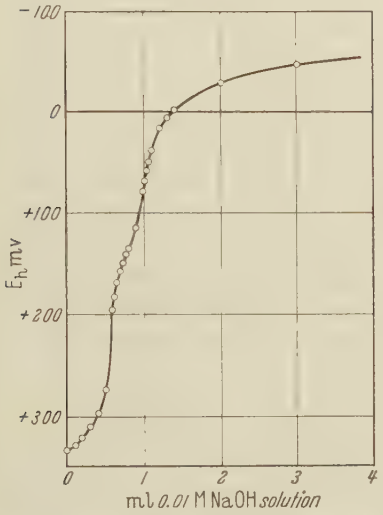


Fig. 1. Titration of 25 ml of $2 \cdot 10^{-4}$ M free acid solution against 0.01 M NaOH solution

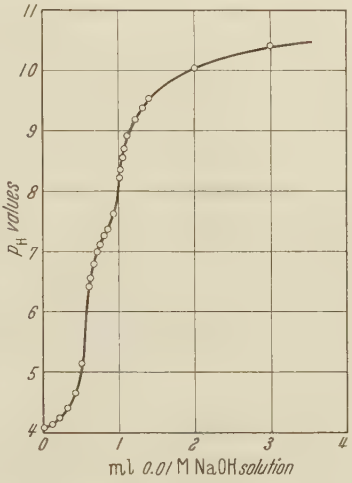


Fig. 2. Relation between p_H values of 25 ml of $2 \cdot 10^{-4}$ M free acid solution and 0.01 M NaOH solution added progressively

step of neutralisation which amounts to about 40 mv per 0.1 ml titrant. That the pure violet color remains constant on further addition of sodium hydroxide solution up to 5.00 ml indicates that the second phenolic group attached to the naphthalene nucleus is not responsible for any acid base color change, and further, that it is the weakest acidic group in the molecule. The p_H values corresponding to the different steps of neutralisation of solochrome violet R.S. were computed from the plot of volume of a kali hydroxide versus p_H values (Fig. 2), which is represented by an identical curve to that obtained potentiometrically. The p_H value at half neutralisation of the sulphonic acid group amounts to 4.35 and is thus the value of pK_1. The p_H value at half neutralisation of the phenolic group in para position to the sulphonic one and which is represented by the second step amounts to 7.38 which is thus the value of pK_2. The value of pK_3 which amounts to 9.49 corresponds to half neutralisation of the second phenolic group.

The p_K values of the three groups are also evaluated by aid of the plot of p_H values against log (acid)/(salt) = x (Fig. 3). The intersects of the three straight lines of this figure with the p_H axis ($x = 0$) give values of 4.35, 7.40 and 9.45 for p_{K_1}, p_{K_2} and p_{K_3} respectively, in comparison with 3.83, 10.53 and 10.7 for the corresponding groups of the fast grey R.A. molecule.

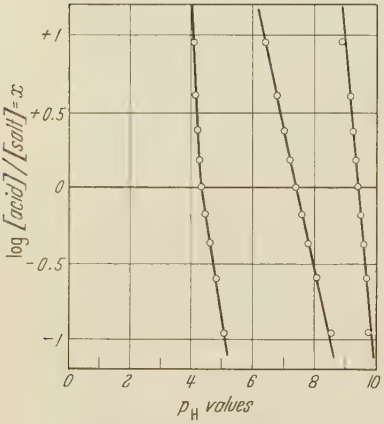
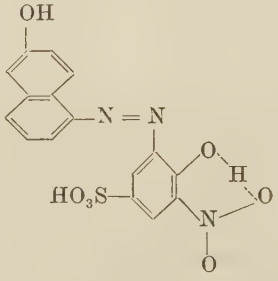


Fig. 3. Log (acid)/(salt) versus p_H values

It is apparent that the order is different only between the two values 7.4 and 10.53 corresponding to the p_{K_2} values of the two phenolic groups attached to the benzene nucleus in both molecules. An interpretation which bears elements of plausibility for such a phenomena is that the OH group in fast grey R.A. ($p_K = 10.53$) is a nitrophenolic group, being in ortho position to a nitro group, and hence, the formation of a hydrogen bridge is possible between these two functional groups which are in suitable relative positions to one another[6] as represented diagramatically in I.



I.

Such a type of bonding between the hydrogen of the phenolic group and the two oxygen atoms as represented above weakens the dissociation of the ortho-nitro phenolic group, a fact which is in agreement with its p_K value of 10.53 in comparison with that of 7.4 of the corresponding phenolic group in the molecule of solochrome violet R.S.

Variation of Absorbance of Solochrome Violet R.S. with p_H

The absorbance of 4.10^{-5} M solochrome violet R.S. solutions buffered to the various p_H values 1—11 were measured at different wave lengths between 400—600 nm. The results are graphically represented in Fig. 4 and 5.

The curves in Fig.4 (acid range) exhibit about the same maximum absorbance at a wave length of 510—515 nm. The curve 1 (Fig.4) represents the relation between extinction and wave length of 5 solutions having the respective p_H values 1.55, 2.42, 3.20, 4.12 and 5.04 whereas curve (2) represents the same relation of a solution having a p_H value of 6.03. This indicates that the absorbance of the dye solution under the

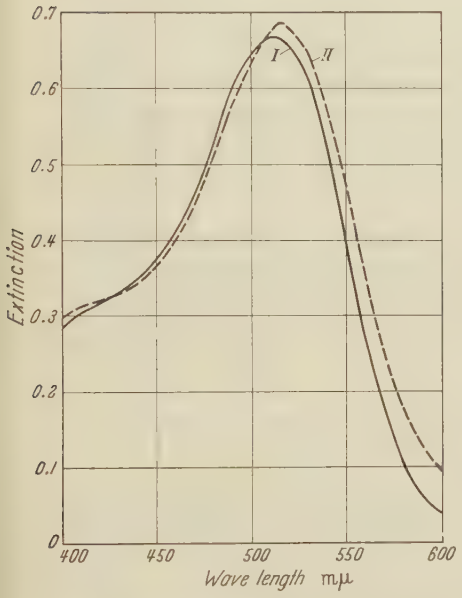


Fig.4. Spectral absorbance of 25 ml of $4 \cdot 10^{-5}$ M dye solution in the range of p_H values 1.55 to 5.04 (curve *I*), and 6.03 (curve *II*)

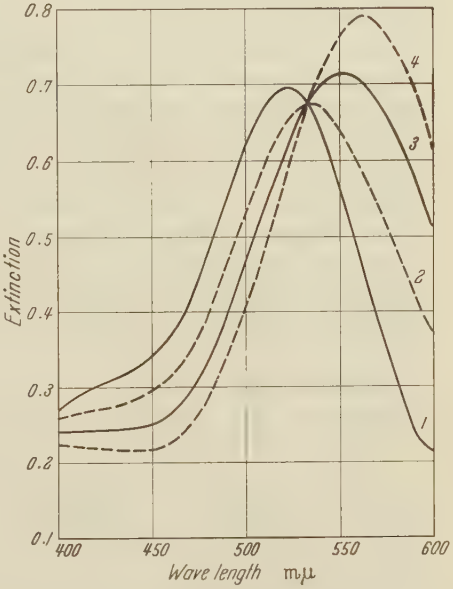


Fig. 5. Spectral absorbance of 25 ml of $4 \cdot 10^{-5}$ M dye solution in the range of p_H values 6.6 (curve *1*), 7.05 (curve *2*), 7.56 (curve *3*) and 8.17 to 11 (curve *4*)

prevaling conditions is constant throughout the p_H range of 1.55—5.04. This result is in harmony with the fact that the dye solution undergoes no color change with p_H up to 5.04. At p_H 6.03 the value of 515 nm of the maximum absorbance is slightly shifted from that of 510 nm which represents the isosbestic point obtained in the above acid region of p_H.

The curves Fig.5 exhibit a clear isosbestic paint at a wave length of 534 nm in the range covering the p_H values of 6.60—11.00. Curve 1 (Fig.5) representing the absorbance measurements at a p_H value of 6.60 shows a maximum absorbance at a wave length of 520 nm. The small shift in the maximum absorbance from 510—520 within the p_H range of 5.04—6.60 corresponds to the complete neutralisation of the sulphonic group with the subsequent color change from distinct orange to orange red in comparison with the change from distinct orange to distinct violet

within the same range of p_H in the case of fast grey R.A. The curves 2 and 3 (Fig. 5) represent the absorbance measurements at p_H values. 7.05 and 7.65 and manifest maximum absorbancies of 534 and 550 nm respectively. Curve 4 (Fig. 5) represents absorbance measurements at the p_H values 8.17, 8.98, 9.98 and 10.90 with a maximum absorbance at a wave length of 562. This gradual shift from 520 nm at p_H 6.60 to 562 nm at p_H 8.17 and higher values corresponds to the neutralisation of the phenolic group in para position to the sulphonic one, since its neutralisation is accomplished at a p_H value of 8.93 as abtained from the above mentioned p_H measurements (Fig. 3). These results confirm the fact that this phenolic group is responsible for the color change from orange red to pure violet and further that the second phenolic group has no influence on the acid base color change since the violet color remains constant at higher p_H values up to 11.00.

The influence of the nitro group on the behaviour of fast grey R.A. in comparison with that of solochrome violet R.S. may be well understood by following the color changes which take place with rise of p_H as represented by the following equilibria,

Solochrome violet R.S.

$$H_3D \underset{pK_1\,4.35}{\overset{-H}{\rightleftharpoons}} H_2D^- \underset{pK_2\,7.4}{\overset{-H}{\rightleftharpoons}} HD^{2-} \underset{pK_3\,9.35}{\overset{-H}{\rightleftharpoons}} D^{3-}$$

orange	orange red	violet	violet
p_H 4.05	5.78	8.93	9.79

Fast Grey R.A.

$$H_3D \underset{pK_1\,3.83}{\overset{-H}{\rightleftharpoons}} H_2D^- \underset{pK_2\,10.53}{\overset{-H}{\rightleftharpoons}} HD^{2-} \underset{pK_3\,10.70}{\overset{-H}{\rightleftharpoons}} D^{3-}$$

orange	violet	violet	violet
p_H 3.60	5.60	10.60	10.90

The fact that the phenolic group in para position to the sulphonic one in solochrome violet R.S., has displayed distinct acid-base properties manifested by a distinct color change from orange red to pure violet, which was not observed in the case of fast grey R.A., confirm the chelation between this group and the nitro group in fast grey R.A., and the formation of a hydrogen bridge to which is attributed the weak acid-base properties of such a nitro-phenolic group.

Fig. 6 and 7 show the relation between p_H and extinction as measured at 580 nm of 4.10^{-5} M solochrome violet solution without treatment and 2.10^{-4} M dye solution after passing through the Dowex 50 resin column in the hydrogen form respectively. Both curves representing such measure-

ments indicate that the absorbance increases with p_H along the ascending parts of the curves which represent the region of color changes

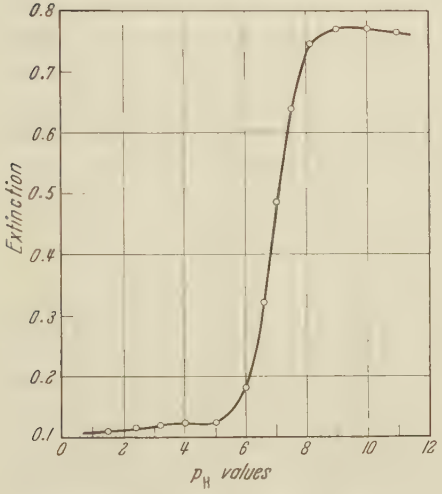


Fig. 6. Extinction versus p_H values of 25 ml of $4 \cdot 10^{-5}$ M dye solution at 580 nm

Fig. 7. Extinction versus p_H values of 25 ml of $2 \cdot 10^{-4}$ M free acid solution at 580 nm

(p_H 5—6.5 represents the region of neutralisation of the sulphonic group p_H 6.5—9 that of the neutralisation of the phenolic one) and remains almost constant along the horizontal parts (above p_H 9 up to 11).

Molecular Formula and Mode of Ionisation and chelation of Solochrome Violet R.S.

The free acid has the structural formula as represented in I (p. 188) without the nitro group appearing in the molecule of fast grey R.A., manifesting distinct acidic properties due to the presence of the sulphonic acid group and the phenolic one in para position to it. The OH attached to the naphthalene ring manifests but poor acid properties owing to its presence in the meta position to the azo group. The p_{K_1}, p_{K_2} and p_{K_3} values of 4.35, 7.4 and 9.45 apparently correspond to the sulphonic, the ortho and meta phenolic groups respectively.

The three steps of ionisation of solochrome violet R.S. may be represented by the formulae shown before[5].

Since the phenolic group in para position to the sulphonic one is appreciably stronger acid than the other phenolic group, it is expected that the former is the center of chelation with a pentavalent ion as vanadium, with which the dye forms a fairly stable colored complex at $p_H \sim 2$ represented by the formula $(H_2D)_xV$, where x is the valency of the metal ion.

Application of Solochrome Violet R.S. as an Acid-base Indicator

The results of titrating different volumes of the above mentioned acids against standard sodium hydroxide solutions, using the present dye as indicator together with other well known ones (Table), indicate that

Table

Acid	N	V	V_1	V_2	V_3	V_4
HCl	0.1014	6.00	6.06	6.02	—	—
HCl	0.1014	8.00	8.10	8.04	—	8.06
HCl	0.1014	12.00	12.16	12.08	—	—
H_2SO_4	0.0980	6.00	5.88	5.83	—	—
H_2SO_4	0.0980	8.00	7.83	7.76	—	7.76
H_2SO_4	0.0980	12.00	11.74	11.68	—	—
H_2SO_4	0.0111	6.00	6.85	6.61	—	—
H_2SO_4	0.0111	8.00	9.08	8.82	—	—
HNO_3	0.0996	6.00	5.96	5.93	—	—
HNO_3	0.0996	8.00	7.95	7.92	—	7.91
HNO_3	0.0996	12.00	11.88	11.82	—	—
HNO_3	0.00938	6.00	5.81	5.60	—	—
HNO_3	0.00938	8.00	7.70	7.47	—	—
acetic	0.0998	6.00	no sharp end point	—	5.93	—
acetic	0.0998	8.00		—	7.92	7.97
acetic	0.0998	12.00		—	11.87	—
acetic	0.0099	6.00	5.92	—	5.92	—
acetic	0.0099	8.00	7.88	—	7.88	—
oxalic	0.0990	6.00	5.89	—	5.88	—
oxalic	0.0990	8.00	7.86	—	7.86	7.91
oxalic	0.0990	12.00	11.79	—	11.79	—
oxalic	0.00986	6.00	no sharp end point	—	5.89	—
oxalic	0.00986	8.00		—	7.86	—
tartaric	0.10065	6.00	5.98	—	5.98	—
tartaric	0.1006	8.00	7.96	—	7.96	7.91
tartaric	0.1006	12.00	11.97	—	11.98	—
tartaric	0.00995	6.00	5.94	—	5.94	—
tartaric	0.00995	8.00	7.92	—	7.94	—
phosphoric	0.0917	6.00	no sharp end point	2.71	5.46	—
phosphoric	0.0917	8.00		3.62	7.26	7.31
phosphoric	0.0917	12.00		5.46	10.93	—
phosphoric	0.00934	6.00	no sharp end point	—	5.58	—
phosphoric	0.00934	8.00		—	7.45	—

N normality of acid. V volume of acid. V_1 E.P. by solochrome violet R.S. V_2 EP. by methyl orange. V_3 E.P. by phenolphthalene. V_4 E.P. potentiometric.

sharp and accurate end points can be obtained if the alkali hydroxide solution is the titrant, the color change being from orange red to distinct violet (p_H range 6.5—9) at the equivalence points. If the order of titration is the reverse, the change in color from distinct violet to distinct orange is not sharp and does not correspond accurately to the theoretical equivalence point, the error amounting in maximum to ~ 3 per cent.

Since we have proved that the acid-base color change of solochrome violet R. S. occurs within the p_H range of 6 to 9, it is expected that such an indicator will be a suitable one for titrating both strong and weak acids with a strong alkali hydroxide. The results in table are in agreement with the above fact, with the exceptions that the present indicator fails to detect the end points with 0.1 N acetic acid or phosphoric acid solutions in the range of 0.01 to 0.1 N, and further titrations of 0.01 N sulphuric and nitric acids involved errors amounting in the average to 3.5 per cent. However, with 0.1 N mineral acids titrated, the results involved but slight deviations amounting in the average to 0.65 per cent whereas with the weaker acids the results in general were in excellent agreement with the theoretical ones.

Summary

The acid base properties of solochrome violet R.S. has been studied with the object of testing its use as an acid base indicator or as a colorimetric reagent. The p_K values of 4.35, 7.4, and 9.45 corresponding to the three steps of ionisation of the free acid were evaluated by the aid of the relation between log (acid)/(salt) and p_H values obtained during the course of the potentiometric titration of the free acid with a free base. The dye has proved to be a suitable indicator in titrating some mineral and organic acids as well as a colorimetric reagent for the microdetermination of vanadium.

References

[1] Amin, A. M., H. Khalifa and A. S. Moustafa: Z. analyt. Chem. **173**, 138 (1960). — [2] Hückel, W.: Theoretical Principles of Organic Chemistry, Volume II, Elsevier Publishing Co., Amsterdam, London, New York, Princeton (1958), p. 342, 343. — [3] Khalifa, H.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 318 (1957); cf. Z. analyt. Chem. **162**, 56 (1958). — [4] Khalifa, H.: Z. analyt. Chem. **158**, 103 (1957). — [5] Khalifa, H., A. M. Amin and F. A. Osman: Z. analyt. Chem. **172**, 167 (1960). — [6] Khalifa, H., and A. Farag: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 423 (1957); cf. Z. analyt. Chem. **162**, 127 (1959). — [7] Khalifa, H., and A. Farag: Z. analyt. Chem. **158**, 109 (1957). — [8] Khalifa, H., and M. R. Zaki: Z. analyt. Chem. **158**, 1 (1957).

Dr. H. Khalifa, Prof. Assist., Cairo University, Faculty of Science, Giza, Egypt (U.A.R.)

Aus dem Institut für Cellulosechemie mit Holzforschungsstelle der Technischen Hochschule Darmstadt

Elektronenoptische Untersuchungen über Probleme der Chromatographie an Glasfaserpapier

Von

GEORG JAYME, GÜNTHER HAHN und HERBERT KNOLLE

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 18. August 1960)

Im Anschluß an die chromatographischen Arbeiten von JAYME mit KNOLLE[5] und mit HAHN[3] interessierte die Struktur und Oberfläche verschiedener angewandter Glasfaserpapiere und die an ihnen durch verschiedene Imprägnierverfahren erzielten Veränderungen im Hinblick auf ihre unterschiedliche Eignung zur chromatographischen Trennung von Zuckern und verwandten Substanzen.

a b c

Abb. 1a—c. Versuche zur Trennung desselben Zuckergemisches auf verschieden imprägnierten Glasfaserpapieren (Erläuterung siehe Text)

Als Extremfälle werden im folgenden die nach DIECKERT u. Mitarb. bzw. nach JAYME u. KNOLLE imprägnierten Glasfaserpapiere beschrieben.

DIECKERT u. MORRIS[1] berichteten über eine Zuckertrennung an Glasfaserpapier, das nach DIECKERT u. REISER[2] (siehe experimenteller Teil) durch Ausfällung amorpher Kieselsäure präpariert war. Leider sind in den uns zugänglichen Veröffentlichungen keine Photographien von solchen Chromatogrammen enthalten. Die Erfolge eigener Trennungsversuche an dieserart imprägniertem Papier zeigt Abb. 1 b.

JAYME u. KNOLLE[5] trennten Zucker an Glasfaserpapieren, die mit Puffergemischen — vorzugsweise Phosphat-

puffern — imprägniert waren. Ein Beispiel hierfür zeigt Abb. 1 c; zum Vergleich gibt Abb. 1 a ein Chromatogramm auf gänzlich unbehandeltem Glasfaserpapier wieder.

Elektronenmikroskopische Beobachtungen

Es lag nahe, die unterschiedlichen Trennungs*ergebnisse* auf unterschiedliche Trennungs*mechanismen* zurückzuführen. Dieckert u. Mitarb.

Abb. 2. Schwimmhautartige Faser-Faser-Bindungen im unbehandelten Glasfaserpapier (Vergr. 1 : 4500)

schlossen ihr Verfahren an vorangehende *adsorptionschromatographische* Arbeiten an Kieselsäurekolonnen an, wohingegen Jayme und Knolle den *verteilungschromatographischen* Charakter ihres Verfahrens betonten.

Diese Unterschiede wurden durch die elektronenmikroskopischen Aufnahmen bestätigt.

Die Abb. 2 und 3 zeigen das unbehandelte Glasfaserpapier. Die einzelnen kurzen Glasfasern werden durch dünne, aus Kieselsäure bestehende und in der Hitze verfestigte Faser-Faser-Bindungslamellen („Schwimmhäute") zusammengehalten. Wichtig ist dabei jedoch, daß die Einzelfasern noch völlig frei liegen und zur *Verteilungschromatographie* geeignet sind. Auf der Oberfläche der Einzelfasern und dieser Schwimmhäute wird durch die Imprägnierung nach Jayme u. Knolle eine wäßrige Pufferlösung als Unterphase festgehalten. Durch stete Verteilung zwischen dieser und der strömenden organischen Oberphase wird die gute Trennung der Zucker bewirkt. Abb. 4 und 5 lassen deutlich erkennen, daß demgegenüber bei der Imprägnierung nach Dieckert u. Mitarb. das Glasfaserpapier nur als

Trägermaterial für die ausgefällte, voluminöse, amorphe Kieselsäure dient. Ähnlich z.B. der neueren Dünnschichtchromatographie nach

Abb.3. Einzelne Faser-Faser-Bindung in stärkerer Vergrößerung (1:10000)

Meinhard u. Hall[6] bzw. Stahl[7] erfolgt die Trennung hier durch Adsorptionschromatographie am Kieselsäureniederschlag.

Experimenteller Teil

Kieselsäureimprägnierung nach Dieckert und Reiser[2]. Passende Glasfaserpapierstreifen wurden, wie bei[2] angegeben, mit einer Natriumsilicatlösung (p.a. Merck) von 100 g Kieselsäure im Liter imprägniert und abgepreßt. Anschließend wurde durch Tauchen in 4 n Salzsäure die Kieselsäure ausgefällt. Nach vorsichtigem Waschen in dest. Wasser wurde mit Methanol und Äther getrocknet.

Phosphatpufferimprägnierung nach Jayme und Knolle. Mit Dichromatschwefelsäure gereinigte Glasfaserpapierstreifen wurden in 0,1 m Pufferlösung von Dinatriumhydrogenphosphat und Phosphorsäure von p_H 5,0 getaucht und staubfrei getrocknet.

Präparation für die Elektronenmikroskopie. 2 mal 2 cm große Stückchen der verschiedenen Papiere wurden nach Jayme u. Hunger[4] unter 30° mit Palladium schräg bedampft und der Metallfilm mit Kohle und Polystyrol verstärkt. Anschließend wurde die Glassubstanz in Flußsäure zerstört und das Polystyrol am Benzolrückfluß auf einem Bronzedrahtnetz weggelöst; die passend zugeschnittenen Objekte wurden im AEG-Zeiss-EM 8-III untersucht.

Zusammenfassung

Elektronenoptische Beobachtungen erhärten die Anschauungen von Jayme u. Knolle über den verteilungschromatographischen Mechanismus der Trennung von Zuckern und verwandten Substanzen an Glasfaserpapier, welches mit Pufferlösungen imprägniert ist. Zugleich wurde der vermutete Adsorptionsmechanismus bei dem Verfahren nach

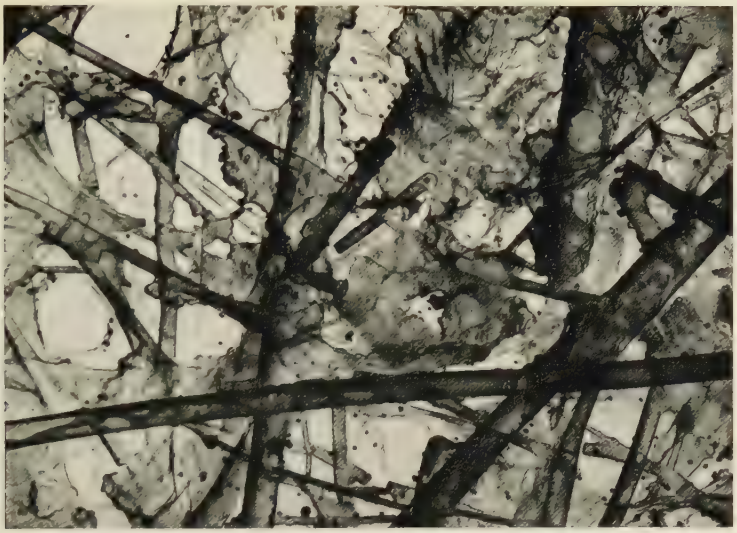


Abb. 4. Kieselsäure-Niederschlag auf dem Glasfaserpapier, imprägniert nach DIECKERT u. REISER (Vergr. 1:4500)

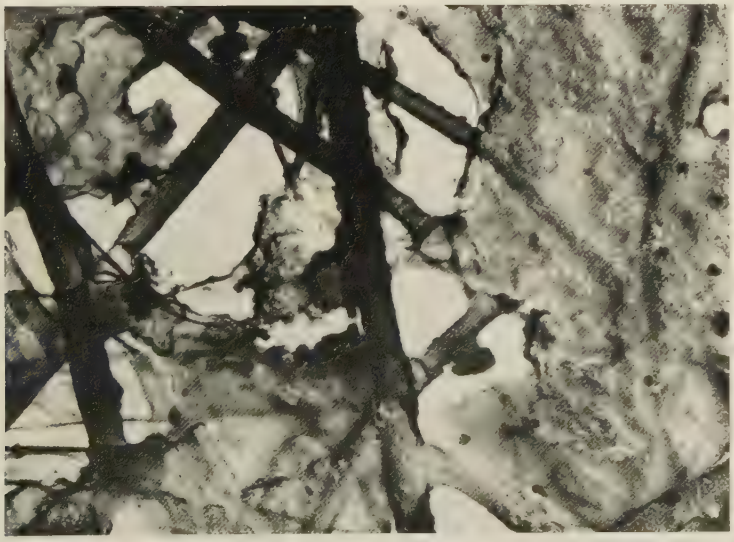


Abb. 5. Dasselbe Papier wie in Abb. 4, amorphe Kieselsäure füllt die Räume zwischen den einzelnen Glasfasern aus (Vergr. 1:10000)

DIECKERT u. Mitarb. erhellt, das sich zur Zuckertrennung offenbar weniger gut eignet. Ein elektronenoptisches Präparationsverfahren für Zellstoffe wurde für Glasfaserpapiere abgewandelt.

Literatur

[1] Dieckert, J. W., u. N. J. Morris: Analyt. Chemistry **29**, 31 (1957); vgl. diese Z. **158**, 234 (1957). — [2] Dieckert, J. W., u. R. Reiser: J. Amer. Oil Chemists' Soc. **33**, 123 (1956); vgl. diese Z. **154**, 376 (1957). — [3] Jayme, G., u. G. Hahn: Angew. Chem. im Druck; Holzforschg. **14**, 52 (1960). — [4] Jayme, G., u. G. Hunger: Mh. Chem. **87**, 8 (1956); Mikroskopie **13**, 24 (1958); Holz Roh- u. Werkst. **17**, 41 (1959). — [5] Jayme, G., u. H. Knolle: Angew. Chem. **68**, 243 (1956); vgl. diese Z. **154**, 300 (1957). — [6] Meinhard, I. E., u. N. F. Hall: Analyt. Chemistry **21**, 185 (1949); vgl. diese Z. **136**, 37 (1952). — [7] Stahl, E.: Pharmazie **11**, 633 (1956).

Prof. Dr.-Ing. Georg Jayme, Darmstadt, Alexanderstr. 24

Institut für analytische Chemie an der Universität Brno, Tschechoslowakei

Nickel- und Manganbestimmung mit Formaldoxim

Von

Arnošt Okáč und **Miloš Bartušek**

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 23. August 1960)

Man weiß seit langem, daß Formaldoxim eine Reihe von empfindlichen Farbreaktionen mit Schwermetallkationen (Mn, Ni, Co, Cu, Fe, V) gibt. Einfache Monoxime bilden keine gefärbten Komplexsalze, das abweichende Verhalten des Formaldoxims kann mit seiner Polymerisationsfähigkeit erklärt werden. Die Zusammensetzung der entstehenden farbigen Komplexe sowie die aktive Form des Reagenses sind bisher nicht bekannt gewesen. Aus diesem Grunde wurden auch alle bisher vorgeschlagenen photometrischen Nickel- und Manganbestimmungsmethoden[5,6] nur empirisch aufgefaßt, was am besten an der Methode von Fischer u. Cayard[4] mit einer neuen Eichkurve für jede neuverwendete Reagenslösung ersichtlich ist. Die von Bradfield[2] sorgfältig ausgearbeitete Manganbestimmungsmethode hat sich auch bei Spurenanalysen wegen ihrer Empfindlichkeit und Selektivität bewährt.

Beim Studium der Reaktionen von Formaldoxim mit Mangan(II)- und Nickel(II)-salzen im alkalischen Milieu haben wir gefunden, daß die entstehenden farbigen Komplexe den Formeln $[Ni^{IV}R_6]^{2-}$ und $[Mn^{IV}R_6]^{2-}$ entsprechen[1], wobei R in der einfachsten Form als $CH_2 = NO^-$ aufgefaßt werden kann. Tatsächlich ist aber die aktive Form des Formaldoxims polymer und zwar wahrscheinlich eine trimere Kettenform[1]:

$$3\,CH_2 = NOH \rightleftarrows CH_2(NHOH) - C\,(= NOH) - CH_2(NHOH)\,,$$

die die farbigen Komplexsalze $[Me^{IV}(R_3)_2]^{2-}$ liefert.

Auf Grund dieser neuen Feststellungen ist es uns gelungen, exaktere photometrische Nickel- und Manganbestimmungsmethoden sowie eine polarographische Nickelbestimmungsmethode auszuarbeiten, die bei Spurenanalysen die relative Genauigkeit von $\pm 3\%$ erreichen.

Experimentelles

Reagens. Als Reagens eignet sich am besten das Chlorid des trimeren Formaldoxims, das wir nach Dunstan u. Bossi[3] herstellen. Eine frische wäßrige Lösung der gleichen Gewichtsmengen von $NaHCO_3$ und $(HR)_3HCl$ hat eine genau definierte Konzentration der aktiven Form des Formaldoxims. Nach 1 Std beginnt sich die Konzentration der aktiven Form in der Lösung zu vermindern. Die Lösung ist aber noch etwa 24 Std praktisch brauchbar.

Man kann auch eine $1-2\%$ige Lösung des Formaldoxims verwenden, die man direkt aus einer konz. Lösung von Formaldehyd und Hydroxylamin abdestilliert (Formaldoxim destilliert bei 85° C). Eine solche Lösung hat zwar keine genaue Konzentration der aktiven Form, bleibt aber mehr als 2 Monate verwendbar. Die Reagenslösung ist etwa 1 Woche farblos, später wird sie gelb, ist aber immer noch brauchbar.

Enthält das Reagens freies Hydroxylamin, so entwickelt sich bei der Reaktion mit Ni^{II}-Salzen eine nicht genau reproduzierbare grüne Färbung. Diese Störung kann man durch Zugabe von Formaldehydüberschuß verhindern. Neutrale Lösungen des Reagenses (z. B. in $NaHCO_3$) sind relativ stabil, in alkalischen und sauren Lösungen wandelt sich das Reagens in die inaktive Form des Formaldoxims um. Diesen Umwandlungsvorgang kann man der polarographischen anodischen Stufe der aktiven Form des Formaldoxims [bei $-0{,}2$ V (gesätt. Kalomelelektrode) in 0,1 n KOH-Lösung] kontrollieren.

Die photometrische Mangan(II)- und Nickel(II)-Bestimmung

Die komplexen farbigen Anionen $(Mn^{IV}R_6)^{2-}$ und $(Ni^{IV}R_6)^{2-}$ sind in Lösungen von $p_H > 12$ ziemlich stabil. Bei niedrigeren p_H-Werten geht $(NiR_6)^{2-}$ in $(HNiR_6)^-$ ($p_K = 10{,}9$) über. $[MnR_6]^{2-}$ wird bei $p_H > 10$ nur sehr wenig zersetzt, bei p_H 6 ist sein Zerfall vollständig. Tartrate stören die Reaktion nicht, die ÄDTA-Komplexe von Ni^{II} und Mn^{II} reagieren nicht mit Formaldoxim. Für die quantitative Reaktion muß die aktive Form des Reagenses in 6fachem molarem Überschuß gegenüber dem Metall vorliegen. Ein größerer Reagensüberschuß stört nicht. Zur Oxydation genügt das Rühren der Lösung an der Luft. Man kann auch Luft durch die Lösungen saugen oder mit Sauerstoff gesättigtes Wasser zugeben. Die Anwendung anderer Oxydationsmittel ist weniger geeignet. Wasserstoffperoxyd wirkt nicht oxydierend, andere Oxydationsmittel (z. B. Hypojodit) zersetzen teilweise die Komplexe. Die gefärbten Formaldoximkomplexe entstehen sofort nach dem Alkalisieren der Lösung, die Färbung ist länger als 2 Std stabil. Beide Komplexe zeigen maximale Lichtabsorption im Bereich von $\lambda = 470$ nm, das Lambert-Beersche Gesetz ist für die Konzentrationen 0,06—20 μg Me/ml Lösung erfüllt. Die molaren Extinktionskoeffizienten sind 19000 für Ni und 11000 für Mn.

Arbeitsvorschrift. Zu neutraler Probenlösung (0,003—1,0 mg Me^{II}) gibt man 1 ml 2%ige Reagenslösung, mischt und fügt 1 ml 10%ige Natronlauge hinzu. Nach sorgfältigem Rühren und Ergänzen zu 50 ml mit Wasser photometriert man bei 470 nm (Blaufilter). Für Mengen unter 0,05 mg Me benützt man eine 3 cm-Küvette, über 0,05 mg Me eine 0,5 cm-Küvette.

Tabelle 1. *Photometrische Mangan- und Nickelbestimmungen*

	gegeben µg	gefunden µg	Δ rel. %
Mn	32,9	33,7	+ 2,4
	55,0	54,5	— 0,9
	110	108	— 1,9
	494	492	— 0,4
Ni	29,4	29,8	+ 1,3
	58,7	58,4	— 0,5
	118	119	+ 0,9
	471	466	— 1,1

Einige Versuchsergebnisse sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Die polarographische Nickel(II)-bestimmung

Die kathodische Depolarisation des Formaldoxim-Ni^{IV}-komplexes findet bei negativerem Potential statt als die der anderen polarographisch benutzten Nickelverbindungen. In 0,1 n Alkalilauge bewirkt die Depolarisation von $[Ni^{IV}R_6]^{2-}$ an der Quecksilbertropfelektrode eine gut entwickelte kathodische Diffusionsstufe mit $E^1/_2 = -0{,}6$ V (gesättigte Kalomelelektrode). Ein großer Überschuß an Reagens wirkt störend

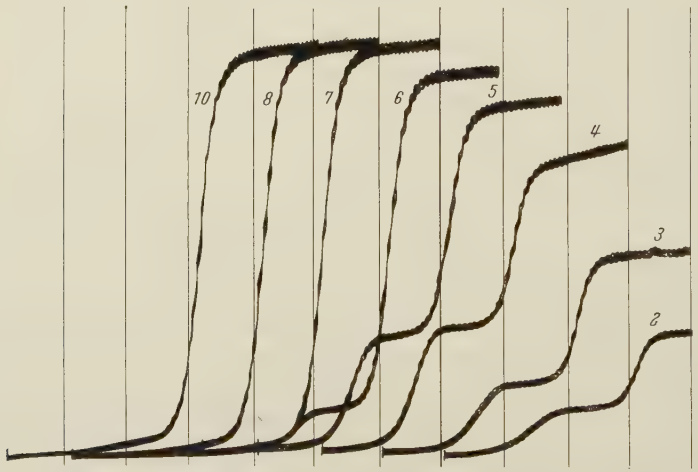


Abb. 1. Polarographische Nickelbestimmung. Versuchsbedingungen: Lösungsgemische von 1 ml 0,01 m $NiCl_2$-, x ml 0,1 n HR-, 1 ml 1 n KOH-, 1 ml 0,1%ige Gelatinelösung mit Wasser zu 10 ml ergänzt, oxydiert mit Sauerstoff, polarographiert von —0,3 bis —0,8 V (SCE). Empfindl. 7, 100 mV/Abs. — Die Kurven 2—6 (die Nummern geben das Verhältnis HR : Ni an) zeigen neben der Stufe von $Ni^{IV}R_6^{2-}$ auch die Stufe des Ni^{IV}-Komplexes mit dem Molverhältnis 1 Ni : 3 HR

wegen des Anwachsens des Stromes vor Beginn der Stufe. Ein Mangel an Reagens stört wiederum die quantitative Auswertung dadurch, daß sich eine selbstständige Stufe des niedrigeren Komplexes mit dem

Molarverhältnis 1 Ni:3 HR ($E^1/_2 = 0{,}42$ V in 0,1 n KOH-Lösung) ausbildet (vgl. Abb. 1). Die polarographische Bestimmung kann in Konzentrationen von 0,0006—0,1 mg Ni/ml durchgeführt werden. Von den Formaldoximkomplexen stören Verbindungen von Cu und Fe, deren Depolarisation bei negativeren Potentialen stattfinden.

Tabelle 2. *Polarographische Nickelbestimmungen*

gegeben µg Ni	gefunden µg Ni	Δ rel. %
23,5	24,2	+ 2,9
93,8	95,2	+ 1,5
294	293	— 0,3
999	1004	+ 0,5

Arbeitsvorschrift. Man gibt zu der neutralen Nickelsalzlösung (0,006—1 mg Ni) je Atom Ni mindestens 6, höchstens 20 Mole Reagens, fügt 1 ml 0,1%ige Gelatinelösung und 1 ml 1 n KOH-Lösung zu und verdünnt mit Wasser auf 10 ml. Zur Oxydation saugt man einen schnellen Luft- oder Sauerstoffstrom 1 min lang durch die Lösung und vertreibt anschließend den Sauerstoff durch einen Stickstoffstrom. Man polarographiert von —0,4 V bis —0,8 V gegen die gesätt. Kalomelelektrode.

Wie man aus Tab. 2 entnimmt, liefert das Verfahren sehr befriedigende Werte.

Zusammenfassung

Es wurden empfindliche, exakte Methoden zur Bestimmung von Mangan(II) und Nickel(II) auf Grund der Bildung der Formaldoximkomplexe beschrieben. Photometrisch können 0,06—20 µg Ni oder Mn/ml, polarographisch 0,6—100 µg Ni/ml erfaßt werden. Das Formaldoximreagens ist durch Abdestillieren aus konzentrierter Lösung von Formaldehyd und Hydroxylamin leicht zugänglich. Die Bestimmungen sind schnell und einfach durchzuführen, die relativen Fehler sind auch bei Spurenanalysen kleiner als 3%.

Literatur

[1] Bartušek, M., u. A. Okáč: Collect. czechoslov. chem. Commun. (im Druck). — [2] Bradfield, E. G.: Analyst **82**, 254 (1957); vgl. diese Z. **161**, 77 (1958). — [3] Dunstan, W. R., u. A. L. Bossi: J. chem. Soc. (London) **73**, 353 (1898). — [4] Fischer, J., u. M. Cayard: diese Z. **122**, 254 (1941). — [5] Marczenko, Z.: Odczinniki organiczne w analizie nieorganicznej. Warszawa 1959. — [6] Welcher, F. J.: Organic Analytical Reagents, Vol. III. New York 1949, S. 345.

Prof. Dr. A. Okáč, Brno, Kotlářská 2 (Tschechoslowakei)

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

II. Analyse anorganischer Stoffe

Die Trennung von Wasserstoff, Neon und Helium bei Normaltemperatur und −78° C an Calciumaluminiumsilicat (Molekularsieb 5 Å) beschreiben M. Krejčí und K. Tesařík[1]. Als Trägergas kann Argon verwendet werden. Die Trennung von gleichen Teilen Neon und Helium ist nicht vollständig, reicht aber für die quantitative Bestimmung aus. Bei größeren Konzentrationsunterschieden empfiehlt es sich bei −78° C zu arbeiten. Die Säule bestand aus einem Aluminiumrohr von 8 mm ⌀; sie wurde mit 109 g Adsorbens gefüllt und dann zu einer Spirale von 150 mm ⌀ zusammengedreht. Die Methode kann bei Luftfraktionierung verwendet werden.

[1] Collect. czechoslov. chem. Commun. **25**, 691—694 (1960). Lab. f. Gasanalyse, Akad. Wiss., Brno (ČSR). D. Jentzsch

Zur colorimetrischen Bestimmung von etwa 1 μg Kupfer/ml schüttelt M. Mashima[1] die Probelösung, deren p_H-Wert über 8 liegen muß, mit einer 0,01%igen Lösung von o-Aminobenzaldehydäthylendiimin und mißt die Extinktion der organischen Schicht bei 416 nm. Bei Gegenwart von Eisen, auch großen Mengen, wird der ammoniakalischen Lösung Weinsäure zugesetzt, wobei $p_H > 8$ bleiben muß.

[1] Jap. Analyst **9**, 202—206 (1960) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Niigata Univ. (Japan). G. Denk

Die Keimbildung und die Fällung von Silberchlorid aus homogener Lösung untersuchen D. H. Klein und L. Gordon[1] durch konduktometrische Titration. 2 l einer $2{,}5—10 \cdot 10^{-5}$ m $AgNO_3$-Lösung werden unter N_2 mit 0,1—1 ml Allylchlorid versetzt. Durch Hydrolyse des Allylchlorids in der verdünnten Lösung nimmt die Leitfähigkeit zunächst geradlinig zu. Der nach einiger Zeit in der Leitfähigkeitskurve auftretende Knickpunkt zeigt die kritische Übersättigung an AgCl an. Die Keimbildung ist nur in geringem Maße von der Konzentration abhängig. Nach anfänglicher Zunahme geht die Fällungsgeschwindigkeit wieder etwas zurück und bleibt dann während der größten Zeit des Fällungsvorganges konstant. Durch Verunreinigungen, die z.B. aus Ionenaustauschern (Wasserreinigung) stammen können, wird die Keimbildung verzögert[2].

[1] Talanta (London) **3**, 177—186 (1959). Case Inst. of Technol., Ohio und Univ. Syracuse, N. Y. (USA). — [2] Frühere Mitteilung: Klein, D. H., u. L. Gordon: Talanta (London) **1**, 334 (1958); vgl. diese Z. **169**, 38 (1959). G. Denk

Aus kinetischen Untersuchungen der Silberchloridfällung aus homogener Lösung schließen D. H. Klein, L. Gordon und Th. H. Walnut[1], daß die Keime aus etwa 5 Ionen bestehen. Die Fällungen wurden mit Allylchlorid bei 25° C durchgeführt, die Ionenkonzentration wurde konduktometrisch ermittelt. Etwa 5 Std nach dem Mischen von $AgNO_3$-Lösung und Allylchlorid wurde durch Ultrafilter filtriert, die zurückbleibenden Teilchen wurden mikroskopisch in Dunkelfeldbeleuchtung ausgezählt.

[1] Talanta (London) **3**, 187—190 (1959). Case Inst. of Techn., Cleveland, Ohio und Univ. Syracuse (USA). G. Denk

Die Extraktion von Silber- und Cadmiumdithizonat untersuchen G. K. Schweitzer und F. F. Dyer[1]. Zweck dieser Untersuchungen ist die Voraussage des p_H-Wertes, bei dem aus reinen Metallsalzlösungen oder in Gegenwart von anderen Komplexbildnern eine Extraktion erfolgt. Die organische Phase (Tetrachlorkohlenstoff oder Chloroform) enthielt in allen Fällen einen großen Überschuß Dithizon. Der wäßrigen Phase wurden beim Cadmium Chlorid-, Bromid- und Jodidionen als Komplexbildner zugesetzt, beim Silber Chlorid-, Bromid-, Jodid-, Thiocyanat- und Thiosulfationen. Die experimentell bestimmten und theoretisch berechneten p_H-Werte für 50%ige Extraktion stimmen im allgemeinen gut überein; ebenso besteht eine gute Übereinstimmung der auf diesem Wege berechneten Stabilitätskonstanten der Komplexe aus Silber- und Bromidionen mit den Literaturwerten. Zur eingehenden Unterrichtung der mathematischen Ableitungen sei auf das Original verwiesen.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **22**, 172—180 (1960). Univ. Knoxville, Tenn. (USA). H. Specker

Die Trennung kleiner Mengen Gold von Kupfer führen S. Hirano, A. Mizuike und K. Yamada[1] durch Extraktion mit Äthylacetat aus. Die Probe wird in Salpeter- + Salzsäure gelöst und mit Äthylacetat ausgeschüttelt, wobei das Kupfer in der wäßrigen Phase bleibt. Nach dem Eindampfen der organischen Schicht zur Trockne wird das *Gold colorimetrisch mit p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin* bestimmt. Versuche mit dem radioaktiven Isotop ^{198}Au zeigen, daß 2—500 ppm Gold in Kupfer mit einem Fehler von 10% in 3—4 Std bestimmt werden können.

[1] Jap. Analyst **9**, 164—167 (1960) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Tokio (Japan). G. Denk

Zur gravimetrischen Bestimmung geringer Berylliummengen empfehlen E. S. Prževalsky und L. M. Moiseeva[1] die Fällung mit *2,2-Dimethylhexandion-3,5* (I) oder *3-Acetylhexanon-2* (II). — a) 10 ml einer gesätt. Lösung von I werden durch Zugabe von Pyridin (nicht mit Ammoniak) auf p_H 5,5—6 eingestellt. In diese Lösung gibt man 100 ml der gegebenenfalls verd. Probelösung (0,2—1,0 mg Be/100 ml). Nach $1^1/_2$ Std filtriert man den ausgefallenen kristallinen Niederschlag in einen Filtertiegel, wäscht 4—5mal mit Wasser, trocknet bei 55° C und wägt. — b) Bei Verwendung von II werden 4 ml der gesätt. Lösung von II vorgelegt und im übrigen wird wie unter a) verfahren. (Hier kann auch Ammoniak zur p_H-Einstellung dienen.) Der Umrechnungsfaktor beträgt in beiden Fällen 0,03096. Die mitgeteilten Analysenwerte zeigen Abweichungen von weniger als 4 μg bei einer Gesamtmenge von 0,1—2,2 mg. — Die meisten Elemente außer Magnesium stören die Berylliumbestimmung. 0,1—0,3 mg Be können nach dem Verfahren a) neben 100 mg Mg bestimmt werden.

[1] Ž. anal. Chim. **15**, 117—118 (1960) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Lomonosov-Univ. Moskau (UdSSR). H. Wunderlich

Die Methoden zur Magnesiumabtrennung von Natrium und Kalium haben A. H. A. Heyn und H. L. Finston[1] unter Verwendung der Leitisotopen Magnesium-28, Natrium-24 und Kalium-42 kritisch untersucht. Fällt man das Magnesium aus homogener Lösung mit 8-Hydroxychinolin, so lassen sich von 69 mg Magnesium 0,4—4000 mg Natrium bis auf 0,02—1 μg abtrennen. Mit allen anderen Abtrennmethoden werden schlechtere Trennungen erzielt, wobei die Trennwirkung in folgender Reihenfolge steigt: Magnesiumammoniumphosphatfällung < Oxalatfällung < Oxinfällung. — *Ausführung der Magnesiumoxinatfällung aus homogener Lösung.* Zur neutralen Probelösung fügt man 2—3 ml 1 n Salzsäure und 1 ml gesätt.

Ammoniumhydrogensulfitlösung. Man verdünnt auf 300 ml, erhitzt auf 90—95° C, setzt 25% im Überschuß (jedoch nicht weniger als 5 ml) einer 5%igen alkoholischen 8-Hydroxychinolinlösung und 10 g Harnstoff zu. Man kocht und fügt 30 min nach Erscheinen des ersten Niederschlages weitere 5 g Harnstoff zu. Man kocht noch 30 min lang, fügt 2—3 ml konz. Ammoniaklösung bis p_H 9,5 zu filtriert nach 10 min, wäscht mit heißem Wasser, das 1 Tr. konz. Ammoniak und 1 Tr. gesätt. Ammoniumhydrogensulfitlösung auf 300 ml enthält, und trocknet bei 105° C zum Dihydrat oder bei 150° C zum wasserfreien Magnesiumoxinat.

[1] Analyt. Chemistry **32**, 328—332 (1960). Boston Univ., Mass. und Brookhaven Nat. Lab., Upton, b. J., N. Y. (USA). KLAUS BRODERSEN

Zur komplexometrischen Bestimmung von Barium und Sulfat empfiehlt I. DRĂGUȘIN[1] die Anwendung eines Mischindicators aus Rhodizonat und Alkaliblau. Das Verfahren gibt reproduzierbare, genaue Resultate. — *Ausführung. Bestimmung in Abwesenheit fremder komplexbildender Ionen.* Zur Bariumbestimmung verdünnt man die neutrale oder schwach saure Ba^{2+}-Lösung auf etwa 100 ml, versetzt mit einigen Tropfen Rhodizonat-Suspension (20 mg Natriumrhodizonat + 2 bis 3 ml Wasser, täglich frisch bereitet), bis die charakteristische Rosafärbung auftritt, fügt 3 ml Pufferlösung p_H 9,5 (2 g NH_4Cl + 25 ml 25%iges Ammoniak in 200 ml) und einige Tropfen 1%ige wäßrige Alkaliblaulösung bis zur blauvioletten Farbe zu und titriert mit 0,1 n ÄDTA-Lösung (Tetranatriumsalz) bis zum Farbumschlag nach Hellgrün. 1 ml 0,1 n ÄDTA-Lösung entspricht 0,006868 g Ba^{2+}. — Zur Sulfatbestimmung versetzt man die Lösung mit einem Überschuß an 0,1 n $BaCl_2$-Lösung, kocht 2—3 min und titriert dann den Bariumrest wie angegeben zurück. — *Bestimmung nach Fällung als Bariumsulfat.* Man fällt das Bariumsulfat wie üblich, filtriert nach 1—2 Std in einen Glasfiltertiegel (10 G 4) und wäscht mit heißem Wasser. Dann bringt man den Tiegel samt Niederschlag in einen Weithalskolben, fügt kochendes Wasser und einen Überschuß an 0,1 ÄDTA-Lösung (ungefähr das Doppelte der theoretischen Menge) zu und erhitzt unter Schütteln einige Minuten, bis die Lösung vollkommen klar geworden ist. Nach Abspülen des Tiegels mit heißem Wasser läßt man abkühlen, gibt einen Tropfen Rhodizonat-Suspension, 2—3 ml Pufferlösung und tropfenweise 0,1 n $BaCl_2$-Lösung bis zum Farbwechsel von Hellgelb in schwach Orange zu. Man fügt noch 1—2 ml 0,1 n $BaCl_2$-Lösung im Überschuß zu, versetzt mit weiteren 2—3 Tr. Rhodizonat-Suspension, außerdem mit Alkaliblau und titriert mit 0,1 n ÄDTA-Lösung wie oben zurück. (Die direkte Rücktitration des ÄDTA-Überschusses mit $BaCl_2$-Lösung gibt keinen scharfen Endpunkt).

[1] Rev. Chim. (Bucarest) **11**, 110—112 (1960) [Rumänisch]. Forsch.-Inst. „Foraj-Extracţie", Cîmpina (Rumänien). A. KURTENACKER

Eine fällungschromatographische Methode zur Bestimmung von Zink beschreiben I. N. GRIGORENKO, N. L. OLENOVIČ und A. A. MOROZOV[1]. Die Probelösung (0,5—1,0 ml) wird auf eine Agar-Agar/Na_2S-Schicht (0,8 g $Na_2S \cdot 9H_2O$ auf 2 g Gel) gegeben, welche sich in einem Zentrifugierglas (10 ml, ⌀ 12 mm) befindet. Im Verlaufe von 24 Std bildet sich eine scharf abgegrenzte Zone von Zinksulfid, deren Breite dem Zinkgehalt der aufgegebenen Lösung proportional und p_H-unabhängig ist. Das Verfahren gestattet, Zink neben Chrom(III) (> 1:10) und in den Systemen $Zn^{2+}/Cr^{3+}/Hg^{2+}$ bzw. $Zn^{2+}/Cr^{3+}/Ag^+$ zu bestimmen.

[1] Ž. anal. Chim. **15**, 115—116 (1960) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Univ. Odessa (UdSSR). H. WUNDERLICH

Cadmium. I. GRECU[1] empfiehlt als neue gravimetrische Bestimmungsmethode die Fällung und Wägung des Cadmiums in Form des weißen, kristallinen, in Wasser, Alkohol und Äther schwer löslichen Piperazinsulfocyanids $[Cd(C_4H_{10}N_2](SCN)_2$.

Das Verfahren gibt genaue Resultate ($S = \pm 0{,}25$, $A = 99{,}86 \pm 0{,}14\%$). Außer Alkali-, Erdalkalimetallen, Hg^{2+} und Mn^{2+} stören die meisten anderen Metalle. — *Ausführung.* Man versetzt 10—30 ml der Cadmiumsalzlösung (0,04—0,2 g Cd enthaltend) mit 2 g NH_4SCN, säuert mit 2—3 Tr. Eisessig an und fällt unter Rühren mit 25 ml 4%iger Piperazinlösung. Der sich rasch absetzende Niederschlag wird alsbald in einen Filtertiegel filtriert. Man wäscht zunächst 4—6mal mit je 1 ml Waschlösung, die 0,04% Piperazin und 0,04% NH_4SCN enthält, dann 5mal mit je 2 ml eines Gemisches von 25 ml Äthanol, 1 g Piperazin und Äther ad 100 ml, schließlich 4mal mit je 2 ml 0,1%iger Lösung von Piperazin in reinem Äther. Anschließend wird im Vakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Der Umrechnungsfaktor auf Cd ist 0,3572.

[1] Stud. Cercet. Chim. (Cluj) **10**, 295—298 (1959) [Rumänisch]. (Mit franz. Zus.fass.) Pharmaz. Fakultät, I. M. F. Cluj (Rumänien). A. Kurtenacker

Zur Trennung des Cadmiums von anderen Kationen benutzt F. W. E. Strelow[1] dessen Verhalten, aus 0,5 n salzsaurer Lösung nicht von einem Kationenaustauscher[2] gebunden zu werden, während *Uran, Kobalt, Nickel, Mangan, Zink, Kupfer, Titan* sowie *Magnesium, Calcium, Strontium, Barium, Eisen, Aluminium, Zirkonium, Thorium, Yttrium, Lanthan, Seltene Erden* und *Caesium* festgehalten werden. Verf. verwendet den Austauscher Dowex 50 (AG 50 W-X 8, 100—200 mesh, 22 cm Höhe, 1,15 cm ⌀) in H-Form. Die Kationen werden aus einer Lösung, die nicht mehr als 0,2 n an Salzsäure ist, am Austauscher fixiert. Dann wird Cadmium durch 225 ml 0,5 n Salzsäure mit einer Durchlaufgeschwindigkeit von 2,0—2,5 ml/min eluiert, und danach werden andere Kationen durch 300 ml 2 n Salzsäure abgelöst. Stärkere Salzsäure wird zur Freisetzung von Calcium, Strontium, Barium, Zirkonium und der Seltenen Erden gebraucht. Zur *Trennung des Cadmiums von Beryllium* wird eine Säule von 35 cm Länge verwendet. *Zinn(IV), Lithium* und *Natrium* bleiben beim Cadmium, *Kalium, Rubidium* und *Ammonium* werden unter den genannten Bedingungen teilweise eluiert. *Gold, Platin, Selen* und *Vanadium(V)* können durch Auswaschen mit 0,2 n Salzsäure vom Cadmium getrennt werden. Wismut, Silber, Quecksilber(I), Blei, Thallium(I) und Wolfram stören, Sulfat kann bis zu einer Konzentration von 0,1 n anwesend sein, wenn es nicht mit bestimmten Kationen Niederschläge bildet. — Die erhaltenen Werte sind sehr gut.

[1] Analyt. Chemistry **32**, 363—365 (1960). Council Sci. Ind. Res., Pretoria (Südafrika). — [2] Vgl. auch Strelow, F. W. E.: Analyt. Chemistry **31**, 1201 (1959); vgl. diese Z. **173**, 435 (1960). R. Klement

Bor. *Die Bedingungen zur colorimetrischen Bestimmung von Bor mit Dianthrimid (1,1'-Iminodianthrachinon)* werden von L. Danielsson[1] näher untersucht. Der entstehende Borsäure-Dianthrimidkomplex mit dem Molverhältnis 1:1 hat bei 620 nm ein Absorptionsmaximum. Die Reagenslösung, die 0,4 mg Dianthrimid/ml enthalten soll, muß mindestens in 10fachem Überschuß zugegeben werden. Im Dunkeln ist sie monatelang haltbar. Die Konzentration an Schwefelsäure kann zwischen 93 und 95% schwanken. Je höher die Reaktionstemperatur ist, um so kürzer ist die Reaktionszeit. So genügt es, die Lösung 1—1,5 Std auf 100° C zu erhitzen, während bei 80° C 4—5 Std erforderlich sind. Bei noch niedrigerer Temperatur wird die Reaktionszeit unbequem lang. Das Verfahren wird hauptsächlich bei der Analyse von Eisen und Eisenlegierungen angewandt, eine Abtrennung des Bors ist dabei nicht notwendig. — *Arbeitsvorschrift.* Die Lösung der Probe in 93—95%iger Schwefelsäure mit 0,3—1 mg B/ml mischt man mit der Lösung des Reagenses in Schwefelsäure gleicher Konzentration (0,4 mg/ml), erhitzt

die nötige Zeit auf 80—100° C und mißt die Extinktion bei 620 nm in einer 1 cm-Zelle gegen eine Lösung der Reagentien. Die Werte entnimmt man einer Eichkurve.

[1] Talanta (London) **3**, 138—146 (1959). Inst. Metal Res. Stockholm und Univ. Stockholm (Schweden). G. Denk

Eine spektrophotometrische Methode zur Bestimmung von Mikromengen Bor unter Verwendung von Methylviolett beschreiben I. Muraki, K. Hiiro, H. Fukuda und E. Miyade[1]. Das Verfahren ist eine Modifikation der von N. S. Poluektov, L. I. Kononenko und R. S. Lauer[2] angegebenen Methode. Statt Flußsäure wird ein Gemisch von Ammoniumhydrogenfluorid und Salzsäure verwendet. Der Einfluß verschiedener Pufferlösungen wird überprüft. Die erhaltenen Ergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung der Werte und genügende Empfindlichkeit. Bei Borkonzentrationen bis 2,5 ppm ist das Beersche Gesetz für die Absorptionsmaxima 545 nm und 610 nm erfüllt. Die vorgeschlagene photometrische Extraktionsmethode ermöglicht eine einfache und schnelle Bestimmung von Mikromengen Bor.

[1] Jap. Analyst **9**, 71—78 (1960) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Osaka Ind. Res. Inst. (Japan). — [2] Ž. anal. Chim. **13**, 396 (1958); vgl diese Z. **168**, 69 (1959). R. Hönigschmid-Grossich

Aluminium. *Eine gravimetrische und volumetrische Bestimmung* läßt sich nach M. Mashima[1] mit *N,N'-Äthylendianthranilsäure* durchführen. Der weiße, kristalline Niederschlag wird entweder bei 130° C getrocknet oder zu Al_2O_3 verglüht oder zur Titration mit Kaliumbromat in alkoholischer Salzsäure gelöst. Die Fehler betragen 2%; durch Eisen wird die Bestimmung gestört. — *Ausführung.* Die Lösung mit 1—10 mg Al versetzt man mit 2 g NH_4Cl, verdünnt auf 150 ml, erhitzt diese Lösung, deren p_H-Wert 4—5 betragen soll, gibt die Reagenslösung hinzu und filtriert. Den Rückstand trocknet man entweder 1 Std bei 130° C und wägt (Faktor 0,0569) oder führt ihn durch Glühen in Al_2O_3 über. — Für die maßanalytische Bestimmung löst man den Niederschlag, der in gleicher Weise aus einer Lösung mit 0,56—2,80 mg Al erhalten wurde, auf dem Filter mit 40—200 ml warmer 6 n alkoholischer Salzsäure und titriert die Lösung mit 0,1 n $KBrO_3$-Lösung, wobei 1 ml 0,225 mg Al entspricht.

[1] Jap. Analyst **9**, 199—202 (1960) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Niigata Univ. (Japan). G. Denk

Über die Schnellbestimmung von Aluminium mittels Hochfrequenztitration haben E. Pungor und E. É. Zapp[1] berichtet. Beschrieben wird die Titration am Pungor-Gerät bei 130 MHz. Die saure Lösung des Aluminiums wird zunächst mit einem abgemessenen Überschuß Barytlauge alkalisiert, der Überschuß wird mit Essigsäure zurücktitriert. Ein Gehalt von 5% Eisen ist hierbei für technische Analysen noch tragbar. Die Ausführungen sind mit einer früheren Mitteilung[2] fast identisch.

[1] Bull. Soc. chim. France **1960**, 121—124. Eötvös-Univ., Budapest (Ungarn). — [2] Pungor, E., u. E. É. Zapp: Egypt. J. Chemistry **2**, 81 (1959); vgl. diese Z. **176**, 365 (1960). K. Cruse

Die papierchromatographische Trennung von Aluminium, Gallium, Indium und Thallium gelingt nach R. J. Magee und I. A. P. Scott[1] mit einem Laufmittel aus 50 Gewichtsteilen Phenol, 30 Volumenteilen Methanol und 20 Volumenteilen konz. Salzsäure. Im absteigenden Verfahren werden auf Whatman-Papier Nr. 1 folgende R_f-Werte gemessen: Al 0,10; Ga 0,76; In 0,24; Tl 0,50. Die bei der

Trennung dieser Elemente (je 20—500 μg) resultierenden Flecken, die durch Überführen der Kationen in die 8-Hydroxychinolinkomplexe sichtbar gemacht werden (Fluorescenz im UV-Licht), überlagern einander nicht und sind auch von den Flecken anderer Elemente (Cu 0,25; Fe 0,40; Cd 0,33; Ni 0,15; Cr 0,15; Zn 0,35) getrennt, so daß die in den einzelnen Flecken enthaltenen Metalloxinate nach Entfernung überschüssigen Oxins vom Papier abgelöst und auf Grund ihrer Lichtabsorption im Bereich um 400 nm photometrisch bestimmt werden können. — *Arbeitsvorschrift.* Man trägt die Lösung der zu trennenden Elemente auf die Startlinie eines genügend langen Filterpapierstreifens auf, läßt sie an der Luft eintrocknen und hängt das Papier in den äquilibrierten Chromatographietank ein. Dann chromatographiert man im absteigenden Verfahren über eine Laufstrecke von 40 cm (Laufzeit etwa 16 Std). Das fertige Chromatogramm läßt man zunächst 30 min an der Luft, danach 15 min lang in einem Trockenofen bei 80° C trocknen. Zur quantitativen Bestimmung der einzelnen Komponenten zerlegt man das Chromatogramm entsprechend den R_f-Werten in einzelne Abschnitte, die folgendermaßen behandelt werden: *Gallium.* Das Papier wird zuerst mit einer 5%igen äthanolischen Oxinlösung, dann mit 5 n Ammoniaklösung besprüht, anschließend 10 min lang bei 75° C getrocknet. Dann schneidet man das den Galliumfleck enthaltende Stück des Chromatogramms aus (Kantenlänge 3 cm) und entfernt daraus durch dreimalige Behandlung mit je 10 ml siedendem Wasser das überschüssige Oxin. Nach $1^1/_2$stündigem Trocknen bei 120° C schüttelt man das Papier 5 min lang in einem Schütteltrichter mit 5 ml heißer konz. Salzsäure, verdünnt zu 25 ml, stellt p_H 4,5 ein und extrahiert das Galliumoxinat mit zwei Anteilen von je 4 ml Chloroform. Die vereinigten Chloroformextrakte trocknet man über Natriumsulfat, verdünnt sie zu 10 ml und photometriert bei 390 nm. Zur Bestimmung von *Indium* und *Aluminium* verfährt man ebenso, benutzt aber als Sprühreagentien eine 5%ige Oxinlösung in Chloroform und anschließend 2 n Ammoniaklösung. Die Oxinate werden in 5 ml kalter Salzsäure gelöst. Die Chloroformextraktion (zweimal 3 ml) wird im Falle des Indiums bei p_H 4,0, im Falle des Aluminiums bei p_H 6 vorgenommen. Die getrockneten und auf 10 ml verdünnten Extrakte werden bei 395 nm (In) bzw. 385 nm (Al) photometriert. Zur *Thallium*bestimmung besprüht man mit 5%iger äthanolischer Oxinlösung und 2 n Ammoniaklösung, verfährt dann weiter wie beim Gallium, extrahiert bei p_H 7—8 und photometriert bei 400 nm. — Bei der Erprobung des Verfahrens wurden die vorgelegten Mengen mit befriedigender Genauigkeit (Abweichungen unter 5%) wiedergefunden.

[1] Talanta (London) **3**, 131—137 (1959). Univ., Belfast, (Nordirland).

H. Hartkamp

Zur Bestimmung von Scandium neben Seltenen Erden und Thorium verwenden I. P. Alimarin und Shen Han-Si[1] Mandelsäure, welche unter den Reaktionsbedingungen die schwerlösliche Verbindung $H_3[Sc(C_8H_6O_3)_3] \cdot n\,H_2O$ bildet: 35 ml Probelösung werden auf p_H 2—3 eingestellt, mit 15 ml 8%iger Mandelsäurelösung versetzt und $^1/_2$ Std auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wird der ausgefallene Niederschlag abfiltriert, mit 0,5%iger Mandelsäurelösung gewaschen und dann durch tropfenweise Zugabe von konz. Ammoniak wieder in Lösung gebracht. Man wäscht mit Wasser nach, stellt durch Zugabe von Salzsäure wieder auf p_H 2—3 ein und fällt erneut mit 15 ml 8%iger Mandelsäurelösung usw. Der jetzt erhaltene Rückstand wird bei 800° C zur Gewichtskonstanz geglüht. Die mitgeteilten Analysenwerte zeigen gute Übereinstimmung mit den berechneten Werten. In Anwesenheit größerer Mengen (> 1:1) an Thorium fallen die Scandiumwerte zu hoch aus.

[1] Ž. anal. Chim. **15**, 31--35 (1960) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Lomonosov-Univ. Moskau (UdSSR).

H. Wunderlich

Die papierchromatographische Auftrennung von Gemischen aus Scandium, Yttrium, Actinium und den Lanthaniden mit nitrathaltigen Laufmitteln ist Gegenstand einer Untersuchung von J. Danon und M. C. Levi[1]. Die Verff. benutzen das absteigende Verfahren. Als Laufmittel verwenden sie Butanol, das zuvor bei Raumtemperatur (25 ± 3° C) mit einer 7 molaren Lösung von Lithiumnitrat in 2 n Salpetersäure gesättigt wurde. Zur Lokalisierung und Identifizierung der Flecken werden die Chromatogramme mit 8-Hydroxychinolin behandelt und ihre Fluorescenzen im UV-Licht beobachtet. Die an solchen Chromatogrammen gemessenen R_f-Werte der *Lanthaniden* (La 0,40; Ce 0,46; Pr 0.51; Nd 0,54; Sm 0,55; Eu 0,55; Gd 0,55; Dy 0,62; Er 0,64) liegen so nahe beieinander, daß diese Elemente — ausgenommen Lanthan, Cer und Praseodym — sich unter den vorliegenden Bedingungen nicht trennen lassen. Die Trennwirkung wird durch Verwendung von Äthyl-, Propyl-, Amyl- oder Isoamylalkohol und durch Erhöhung der Arbeitstemperatur nicht verbessert. Recht gut lassen sich hingegen *Scandium* (R_f 1,00), *Yttrium* (0,58) und *Lanthan* trennen. Auch die mit radioaktivem ^{228}Ac verfolgte *Trennung von Lanthan und Actinium* verläuft befriedigend. Das von den Verff. benutzte Laufmittel erfordert ziemlich lange Laufzeiten (30—72 Std).

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **3**, 193—194 (1960). Centre Physic. Res., Rio de Janeiro (Brasilien). H. Hartkamp

Die Trennung der leichten Seltenen Erden durch Ionenaustausch haben P. R. Subbaraman, K. S. Rajan und J. Gupta[1] an Dowex 50 mit einer Lösung von Natriumtriphosphathexahydrat als Eluierungsmittel im p_H-Bereich von 5—8 untersucht. Die einzelnen Fraktionen wurden spektrophotometrisch analysiert. Bei Gemischen von *Samarium und Neodym* sowie von *Praseodym und Lanthan* wurden mit einem 0,2%igen Eluierungsmittel bei p_H 6 die günstigsten Ergebnisse erzielt. Bei einem Gemisch von Neodym und Praseodym wurden keine befriedigenden Ergebnisse erhalten. Im allgemeinen verläuft die Trennung bei niedrigeren p_H-Werten schärfer, jedoch ist der Verbrauch an Eluierungsmittel bei höheren p_H-Werten wesentlich geringer. So sind z. B. zur Elution von 1 g-Atom Seltener Erde bei p_H 8 2,6 Mole, bei p_H 6 5 und bei p_H 3,6 mehr als 20 Mole Triphosphat erforderlich.

[1] Z. anorg. allg. Chem. **304**, 191—195 (1960). Nat. Chem. Lab., Poona (Indien). F. Schärtl

Zur Bestimmung von Beimengungen an Seltenen Erden in Samarium und Europium entwickeln V. L. Kustas und G. V. Lazebnaja[1] ein spektralanalytisches Verfahren, das die quantitative Bestimmung in reinen Samarium- und Europiumoxyden in den Grenzen von 0,01—4% bzw. 0,002—5% mit einem mittleren relativen Fehler von 3—5% gestattet, falls mindestens 5—10 mg Substanz vorliegen. Die Analysen werden an einem sowjetischen Diffraktionsspektrographen, dessen Dispersion 2 Å/mm beträgt, durchgeführt. Analysenlinien und -ergebnisse werden an Hand von Diagrammen und Tabellen wiedergegeben.

[1] Ž. anal. Chim. **15**, 57—60 (1960) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) O. Gautsch

Die schnelle elektrolytische Abscheidung der Actiniden bei Tracerkonzentrationen aus einer Lösung von NH_4Cl-HCl mit Ausbeuten von 95—100% beschreibt R. F. Mitchell[1]. Für die Impulshöhenanalyse von α-Strahlern ist eine gleichmäßige unsichtbare Schicht erforderlich, die man wie folgt erhalten kann: Das abzuscheidende Actinidenelement wird mehrmals mit Salzsäure zur Trockene eingedampft und mit 1 ml konz. Salzsäure aufgenommen. Man überführt die Lösung in ein Elektrolysengefäß, dessen Boden die Kathode, ein Platinblättchen von 2,2 cm ∅ ist, und wäscht zweimal mit 1 ml Wasser. Nach Zusatz von Methylrot setzt man so viel Ammoniak zu, daß die Lösung basisch reagiert, und säuert dann

mit 2 n Salzsäure an. Auf diese Weise entsteht das günstigste Volumen von 4—5 ml und ein p_H von etwa 1 sowie die geeignete Chloridkonzentration von 0,1—0,2 g/ml. Man setzt eine rotierende Platinanode im Abstand von 5 mm über das Platinblättchen und stellt die Spannung so hoch ein, daß ein Anfangsstrom von 2 Amp. fließt. Nach 15 min Stromdurchgang wird die Lösung ammoniakalisch gemacht, das Platinblättchen abgespült und in der Flamme auf Rotglut erhitzt. Damit wird der abgeschiedene Film des Actinidenelements als Oxydschicht fixiert. — Wegen der lebhaften Wasserstoffentwicklung an der Kathode eignet sich die Methode nicht zur Abscheidung eines gut haftenden Films von Mikro- oder Milligramm-Mengen.

[1] Analyt. Chemistry **32**, 326—328 (1960). Tracerlab Inc., Richmond, Calif. (USA).
H. Haug

Thorium. *Zur spektrophotometrischen Bestimmung von Thorium mit Neothoron* geben T. Takahashi und S. Miyake[1] folgende *Arbeitsvorschrift.* 1 ml 0,1%ige Neothoronlösung, 5 ml Pufferlösung p_H 2 (4,7 g KCl + 1,1 ml konz. Salzsäure/250 ml Lösung) und ein Anteil der zu untersuchenden Lösung, der weniger als 150 µg Th enthält, werden auf 25 ml aufgefüllt. Um die Farbe zu entwickeln, läßt man 1 Std oder länger stehen und mißt die Absorption in 1 cm Schichtdicke bei 580 nm gegen Wasser oder Blindlösung. — Neben anderen Ionen[2] stören auch Nitrat und Citrat.

[1] Talanta (London) **3**, 155—159 (1959). Univ. Tokyo (Japan). — [2] Ishibashi, M., u. S. Higashi: Jap. Analyst **4**, 14 (1955); **5**, 135 (1956); vgl. diese Z. **150**, 451 (1956); **154**, 198 (1957). H. Haug

Die Wirkung von Essigsäure auf die Extraktion von Thorium mit Thenoyltrifluoroaceton haben G. Goldstein, O. Menis und D. L. Manning[1] untersucht. Essigsäure erhöht die Extraktion des Thoriums und setzt die anderer Elemente herab, was der Bildung von Additionsverbindungen zugeschrieben wird. Methoden zur Trennung von Lanthan und Thorium nutzen diese Tatsache aus. Für die Extraktion von Mikrogramm-Mengen Thorium aus perchlorsaurer Lösung wird am besten Benzol als Lösungsmittel benutzt (Gleichgewichtskonstante 25,4); zur Extraktion aus essigsaurer Lösung ist Tetrachlorkohlenstoff (10,2) besser geeignet als Hexon (9,9). Bei der Wahl des geeigneten Lösungsmittels sind verschiedene Faktoren zu berücksichtigen, die alle die Verteilung des Thoriums beeinflussen, so unter anderem die Mischbarkeit der Phasen, die Löslichkeit der Metallchelate in der organischen Phase und die Verteilung von Essigsäure und Thenoyltrifluoroaceton zwischen wäßriger und organischer Phase.

[1] Analyt. Chemistry **32**, 400—404 (1960). Oak Ridge Nat. Lab., Tenn. (USA).
Liselott Johannsen

Uran. Nach V. F. Eskevič und L. A. Komarova[1] können sehr kleine Urankonzentrationen (bis herab zu 1 µg U/l) durch *amperometrische Titration mit Ammoniumvanadatlösung* mit einer Genauigkeit von 2—3% bestimmt werden. Als Indicatorelektrode dient ein in ein Glasrohr eingeschmolzener Platindraht von 15 mm Länge und 0,5 mm ⌀, der mit 750 U/min rotiert. Bezugselektrode ist ein Wismustab, der in 12 n Schwefelsäure taucht. Eine Glasfritte bildet die Verbindung mit der zu titrierenden Lösung. Die Reaktion, deren Potential bei + 1,22 V liegt, verläuft in 12 n Schwefelsäure schnell. Da die hierbei auftretenden Diffusionsströme groß sind, kann auf das Anlegen einer äußeren Spannung verzichtet werden. Die Titrationskurven haben ⌣-Form. — *Ausführung.* Die Probeneinwaage und die Normalität von Ammoniumvanadat richten sich nach dem Urangehalt (bei 1 bis 0,01% U wägt man 0,2—1 g um und titriert mit 0,01 n Vanadatlösung; bei 0,01 bis 0,0005% U wird 1 g eingewogen und mit 0,0002 n Vanadatlösung titriert). Nach

Aufschluß der Probe und Entfernung des Unlöslichen wird das Uran unter gleichzeitiger Reduktion als Phosphat gefällt, wobei Thorium- oder Chrom(III)-phosphat als Sammler dient. Dazu wird die saure Lösung mit Ammoniak bis p_H 2,3 neutralisiert (Methanilgelb als Indicator), mit 3 ml konz. Salzsäure versetzt und auf 200 ml verdünnt. Danach gibt man zur Lösung 10 ml 10%ige Mononatriumphosphatlösung, Natriumhydrosulfit (1 g auf 1 g Einwaage), 3—4 ml Thoriumchloridlösung (5 mg Th/ml) und etwas Filtrierpapier. Das ausgefallene Uranphosphat wird unter Saugen in einen Filtertiegel Nr. 3 oder in einen Büchner-Trichter (mit Blau- oder Weißbandfilter) filtriert und dann in 8—16n Schwefelsäure (30—60 ml) gelöst. Bei dem Chromverfahren fügt man der Lösung nach dem Phosphatzusatz 0,5—15 g festes Ammoniumrhodanid (2,5 g auf 0,1 g Eisen) zu, außerdem 0,5 n $CrCl_3$-Lösung, bis die rote Eisenrhodanidfärbung verschwindet und noch 3 ml davon im Überschuß. Weiter verfährt man wie oben. Die erhaltenen Lösungen werden nach Eintauchen der Elektroden in üblicher Art mit Ammoniumvanadatlösung amperometrisch titriert.

[1] Ž. anal. Chim. **15**, 84—87 (1960) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) O. Gautsch

Der Einfluß einiger Ionen auf die Fällung von Uranylcyanoferrat(II) aus wäßrigen Lösungen wird von V. G. Sočevanov, N. V. Šmakova und G. A. Volkova[1] durch *amperometrische Titration* mit Kaliumcyanoferrat in 1 m KNO_3-Lösung bei p_H 3,0 bis 5,0 und 40—60° C verfolgt. Es wird festgestellt, daß NH_4^+, Na^+, Mg^{2+}, Ag^{3+}, Cr^{3+}, Ce^{3+}, VO_3^-, CrO_4^{2-} und Cl^- die Zusammensetzung von Uranylferrocyanid: $K_4[UO_2]_4 \cdot [Fe(CN)_6]_3$ nicht ändern und seine amperometrische Titration nicht stören. Zn^{2+}, Cu^{2+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}, Fe^{3+}, Th^{4+}, MoO_4^{2-}, PO_4^{3-} und SO_4^{2-}-Ionen stören; in einigen Fällen werden kompliziert zusammengesetzte Verbindungen gebildet.

[1] Ž. anal. Chim. **15**, 77—83 (1960) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) O. Gautsch

Die Polarographie von Uranverbindungen in Carbonat- und Hydrogencarbonatlösungen behandelt A. I. Stabrovskij[1]. Das Halbwellenpotential der ersten Reduktion von U^{VI} von — 0,7 bis — 0,9 V erhält man in allen untersuchten Fällen beider Lösungen. Das Potential der zweiten Reduktion (zu U^{IV}) mit — 1,3 bis — 1,4 V erhält man nur, wenn keine zu starke Hydrolyse einsetzt. Der Verlauf der Strom-Potentialkurve wird wesentlich von der Zusammensetzung der Lösung, der Hydrolyse und der Carbonat- bzw. Hydrogencarbonationenkonzentration beeinflußt. Als Carbonatkomplex vorliegendes Uran(IV) reduziert sich nicht an der Tropfelektrode, kann sich aber bis zum U^{VI} oxydieren. Führt man in Natriumcarbonatlösungen U^{VI} und U^{IV} ein, bildet sich U^V, das sich mit anderswertigen Uranionen im Gleichgewicht befindet. Die Elektrodenreaktionen von U^V und U^{VI} sind praktisch nicht umkehrbar.

[1] Ž. neorg. Chim. **5**, 811—820 (1960) [Russisch]. O. Gautsch

Die Abtrennung des Urans von Begleitmetallen erzielen D. I. Rjabčikov, P. N. Palei und Z. K. Michailova[1] in ÄDTA-haltiger Lösung (0,2—0,5% ÄDTA) mit Hilfe von Kationenaustauschern. Trennungen sind auf zweierlei Art möglich: In saurem Medium, wo Uran als positiv geladenes Ion vorliegt, bilden die meisten Begleitelemente einen anionischen Komplex mit ÄDTA und werden am Austauscher nicht festgehalten. In nahezu neutraler Lösung liegt Uran als instabiler Anionkomplex vor und kann an einem Carboxylharz nach Zerlegung des Komplexes adsorbiert werden. Im Bereich p_H 1,7—1,9 erfolgt die Trennung am Sulfokationit KU-2 in der Na-Form, wenn uranreiche Materialien vorliegen. Bei p_H 5,5—7,0 können große und kleine Uranmengen an dem Carboxylharz Amberlite IRC-50 (in der Na-Form) von anderen Elementen getrennt werden. In beiden Fällen wird Uran

in der Austauschersäule festgehalten und kann mit 3 n Schwefelsäure eluiert werden. Für sehr geringe Urankonzentrationen empfehlen Verff., Eisen(III)-sulfat als Spurenfänger zuzusetzen und mit Ammoniak auszufällen. Die Trennung wird durch Chlor-, Sulfat- und Nitrationen nicht gestört, wohl aber durch Phosphat- oder Fluoridionen, wenn diese in mehr als 10facher Menge vorliegen. — *Ausführung.* Für *uranreiche Materialien* dient eine Säule (25 cm Höhe, 1 cm ∅), die mit dem Kationit KU-2 in der Na-Form von der Korngröße 0,25 mm gefüllt ist. Man löst 0,5 g Legierung in Königswasser bzw. Konzentrat in Perchlorsäure, füllt auf 250 ml auf und entnimmt für die Analyse einen 10—20 mg Uran enthaltenden Anteil. Er wird mit 1—2 ml 5%iger ÄDTA-Lösung versetzt, mit Ammoniak auf p_H 1,7—1,9 gebracht und mit der Geschwindigkeit 0,8 ml/min durch die Säule laufen gelassen. Nach dem Waschen mit Wasser (150 ml, Geschwindigkeit 3,2 ml/min) eluiert man mit 3 n Schwefelsäure (1,6 ml/min). Die Uranbestimmung im Eluat kann erfolgen, indem man im Wismutreduktor reduziert und dann mit Dichromatlösung titriert. Die Analyse uranreicher Proben mit dem Austauscher Amberlite IRC-50 erfolgt analog, nur bringt man die Lösung auf p_H 5,5—7,0. — Für *Materialien mit Urangehalten von Zehntel oder Hundertstel Prozenten* genügen 2 ml Austauscherharz, Durchlaufgeschwindigkeit der Lösung 0,3 ml/min, der Eluiersäure 0,6 ml/min. Die 0,5—2,0 mg Uran und 50 mg Fe enthaltende Probe wird mit 0,45 g ÄDTA versetzt, mit Ammoniak auf Rotorangefärbung gebracht (p_H 5,5—6,5) und wie oben weiterbehandelt. Zum Eluieren genügen 35 ml 3 n Schwefelsäure, die Urantitration kann mit 0,004 n Anmmoniumvanadatlösung durchgeführt werden (Indicator Phenylanthranylsäure). — *Zur Anreicherung des Urans* versetzt man die salpetersaure, durch Kochen von CO_2 befreite Lösung der Probe mit 1 ml 5%iger $Fe_2(SO_4)_3$-Lösung, fällt mit Ammoniak, filtriert und löst den Niederschlag mit 1 n Salpeter- oder Salzsäure. Nach Zugabe von 1 g Na_2ÄDTA verfährt man wie oben.

[1] Ž. anal. Chim. **15**, 88—95 (1960) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Vernadskij-Inst., Akad. Wiss. UdSSR, Moskau (UdSSR). H. Wunderlich

Mit der vollständigen Indiumtrennung aus zinnhaltigen Materialien befassen sich I. S. Levin, R. A. Polovinkina und O. M. Polunina[1]. Die Proben werden mit der 6fachen Menge Natriumperoxyd bei 600—650° C geschmolzen, die Schmelze wird mit Wasser ausgelaugt. Eine vollständige Indiumabtrennung gelingt nur, wenn man der Probe vor dem Schmelzaufschluß eine 10fache Menge an Magnesiumoxyd zusetzt. Der Mechanismus der sich hierbei abspielenden Vorgänge ist noch nicht geklärt; vor allem weiß man nicht, ob beim Auslaugen Indiumhydroxyd oder Magnesiumindat entsteht.

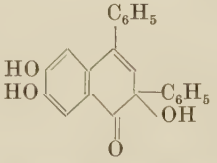
[1] Zavodskaja Laborat. **26**, 148—149 (1960) [Russisch]. Zinn-Inst., Sibirische Filiale Akad. Wiss. UdSSR. O. Gautsch

Germanium. V. A. Nazarenko und N. V. Lebedeva[1] berichten über die Anwendung einiger *Derivate von Trioxyfluoron* zum Nachweis und zur colorimetrischen Bestimmung von Germanium. Sie bestimmen die molaren Extinktionskoeffizienten der Germaniumkomplexe in 0,5 n Salzsäure mit 9 verschiedenen Trioxyfluoronderivaten bei 530 nm und außerdem den molaren Extinktionskoeffizienten des Komplexes mit 9-(2,4-Disulfophenyl)-trioxyfluoron in 0,1 n Salzsäure bei 520 nm. Mit diesem Disulfophenylfluoron wird die höchste Analysenempfindlichkeit erreicht. Gegenüber dem gewöhnlich verwendeten Phenylfluoron hat das Reagens den Vorzug, in Wasser löslich zu sein. Seine Anwendbarkeit ist aber auf schwach saure Lösungen beschränkt. In Anwesenheit von Gelatine als Schutzkolloid ist das Beersche Gesetz im Bereich von 0—40 μg Ge/50 ml Lösung erfüllt. Der Komplex enthält 2 Mole Fluoron auf 1 Atom Ge. Die zu untersuchende Lösung, 0,02 n bis

0,05 n an Säure, wird mit 2 ml 1%iger Gelatinelösung und 5 ml 0,05%iger wäßriger Lösung von Disulfophenylfluoron versetzt und mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Danach wird bei 520 nm photometriert.

[1] Zavodskaja Laborat. **25**, 899—903 (1959) [Russisch]. Inst. allg. anorg. Chem., Akad. Wiss. UkrainSSR. O. Gautsch

Zur photometrischen Germaniumbestimmung untersuchen L. I. Kononenko und N. S. Poluektov[1] das Verhalten von Germanium gegenüber einigen o-Dihydroxychromenolen. Die empfindlichste Reaktion erhält man mit dem Chlorid von *6,7-dihydroxy-2,4-diphenylbenzopyranol*



(gewonnen aus Oxyhydrochinon und Dibenzoylmethan nach C. Bülow und W. Sicherer[2]). In 0,1 n Salzsäure ändert sich die Färbung des Komplexes von Gelb in Orangerot. Mit diesem Reagens können 0,1—25 μg Ge in 10 ml bestimmt werden. Der Komplex enthält auf 1 Atom Germanium 2 Mole Reagens. Ähnlich wie Germanium reagieren auch viele andere Elemente. Sie lassen sich bis zu einem gewissen Grade maskieren und zwar Zr, Hf, Th, Fe^{III}, Bi mit ÄDTA; Ti mit Phosphorsäure, Mo, W, Sb, V mit H_2O_2, so daß ohne wesentliche Störung der Ge-Bestimmung in 25 ml Lösung vorhanden sein können: 12,5 mg Bi, 2,5 mg Th, 1,5 mg Fe^{III}, 1,0 mg Ti, 0,75 mg Al, 0,5 mg Zr, 1 mg Hf, 0,4 mg Sn^{II}, 100 μg V, 40 μg Nb, 30 μg Ta, 20 μg Sn^{IV}, 15 μg W, 5 μg Mo, 5 μg Sb. — *Ausführung. a) In Anwesenheit der Störelemente.* Man versetzt die zu untersuchende Lösung in einem 25 ml-Kolben nacheinander mit 1 ml 5 n Salzsäure, 0,2—0,3 ml Phosphorsäure (1:1), 2—3 Tr. Perhydrol, 2 ml 5%iger ÄDTA-Lösung, 1 ml 1%iger Gelatinelösung und 1,25 ml 0,2%iger äthanolischer Reagenslösung, füllt mit Wasser zur Marke auf und mißt die optische Dichte nach 3 min in 20 mm-Küvetten bei 500 nm. Die Eichkurve ist bis zu einem Gehalt von 25 μg Ge eine Gerade. — *b) Bestimmung nach Abtrennung der Störelemente durch Extraktion.* Die Extraktion erfolgt nach der Arbeitsweise von V. A. Nazarenko, N. V. Lebedeva und R. V. Ravickaja[3]. Die erhaltene Lösung von $GeCl_4$ in Tetrachlorkohlenstoff wird 3 mal mit je 4 ml Wasser ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird zur Befreiung von CCl_4-Tropfen durch ein kleines Filter filtriert, das Filtrat wird mit 1 ml 5 n Salzsäure, 1 ml 1%iger Gelatine- und 1,25 ml Reagenslösung versetzt, auf 25 ml aufgefüllt und wie oben gemessen.

[1] Ž. anal. Chim. **15**, 61—68 (1960) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Inst. allg. anorg. Chem., Akad. Wiss. UkrainSSR, Labor. Odessa. — [2] Ber. dtsch. chem. Ges. **34**, 3916 (1916). — [3] Zavodskaja Laborat. **24**, 9 (1958); vgl. diese Z. **166**, 205 (1959). O. Gautsch

F. Nelson und K. A. Kraus[1] haben durch Versuche mit ^{77}Ge die Bedingungen festgestellt, unter denen sich $GeCl_4$ aus konz. salzsaurer Lösung durch einen Stickstoffstrom quantitativ austreiben und aus dem Gasstrom quantitativ auf einer Anionenaustauschersäule (Dowex-1×8) auffangen läßt. Über die analytische Anwendung soll noch berichtet werden.

[1] J. Chromatogr. (Amst.) **3**, 279—281 (1960). Nation. Labor. Oak Ridge, Tenn. (USA). A. Kurtenacker

Zur direkten komplexometrischen Bestimmung von zweiwertigem Zinn benutzt I. Dubský[1] die Tatsache, daß zweiwertiges Zinn mit Ammoniumfluorid oder Weinsäure keine Komplexe bildet, solange die beiden Reagentien nicht in zu

großem Überschuß vorliegen. Sn^{4+} und Sb^{3+} jedoch lassen sich maskieren. Titriert wird bei p_H 5,5—6 (Pyridin-Acetatpuffer) mit ÄDTA-Lösung gegen Methylthymolblau als Indicator. Alkali- und Erdalkalimetalle stören die Sn^{II}-Bestimmung nicht, Oxalate und Citrate stören. Überschüsse an Ammoniumfluorid und Weinsäure machen den Farbumschlag des Indicators am Titrationsende undeutlich und verursachen zu niedrige Resultate. — *Ausführung.* Man versetzt die zu untersuchende Lösung, die nicht mehr als 50 mg Sn^{II}, 50 mg Sn^{IV} und 10 mg Sb enthält, mit 10 ml 1%iger NH_4F-Lösung und etwa 20 ml 1%iger Weinsäurelösung und bringt mit Pufferlösung (40 ml Eisessig + 160 ml Pyridin im Liter) auf p_H 5,5—6. (Wenn die Lösung der Probe stark sauer ist, wird noch reines Pyridin zugesetzt). Nach Zugabe von Indicator (Methylthymolblau-KNO_3-Gemisch 1:100) wird mit 0,05 m ÄDTA-Lösung (Na_2-Salz) bis zum Farbübergang von Blau über Violett und Rosa nach Hellgelb titriert. Die Bestimmungsfehler betragen im Mittel — 0,8% (minimal ± 0,0%, maximal — 3,8%).

[1] Collect. czechoslov. chem. Commun. **24**, 4045—4049 (1959) [Russisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) „Bižuterie" Jablonec n/Nisou (ČSR). O. Gautsch

Blei. *Zur Bleibestimmung mit ÄDTA* empfehlen M. Hisada und K. Kashikawa[1] folgende *Arbeitsweise:* Man behandelt die Probe mit Salpeter- und Schwefelsäure, filtriert das Bleisulfat ab, löst es in Ammoniumacetat-Essigsäuremischung (p_H 5), kocht einige Minuten und titriert sofort mit ÄDTA-Lösung mit Kupfer-PAN (Kupfer-α-pyridyl-β-azonaphthol) als Indicator (Umschlag von Rot nach Gelb). Barium und Wolfram stören und müssen vorher abgetrennt werden. Eine Analyse erfordert 2—3 Std Zeit.

[1] Jap. Analyst **9**, 87—91 (1960) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Akenobe Mine, Mitsubishi Metal Min. Co., Ltd. (Japan). Klaus Brodersen

M. Vancea und M. Voluşniuc[1] beschreiben ein *Titrationsverfahren von Blei mit Phosphat in acetatgepufferter Lösung (p_H 4,7) unter Verwendung einer Dithizonlösung in Chloroform als Indicator*[2]. Die Bestimmung, die auf etwa 0,1—0,3% genaue Werte liefert, ist neben den Erdalkalien ausführbar. Dagegen stören die meisten anderen Metalle. — *Ausführung.* Man versetzt 10—20 ml der Bleiacetatlösung mit 5—10 ml Pufferlösung (6 ml Eisessig + 13,6 g Natriumacetat im Liter) und 1 ml 0,03%iger Lösung von Dithizon in Chloroform. Dann läßt man 0,1 m K_2HPO_4- oder KH_2PO_4-Lösung (mit Salpetersäure schwach angesäuert) unter ständigem Schütteln bis zum Farbumschlag von Rot über Lila nach Grün zutropfen. Der Äquivalenzpunkt (3 Pb ≅ 2 PO_4) ist bei der lila Übergangsfarbe erreicht.

[1] Stud. Cercet. Chim. (Cluj) **10**, 275—278 (1959) [Rumänisch]. (Mit franz. Zus.-fass.) Chem. Inst. Akad. R.P.R., Filiale Cluj (Rumänien). — [2] Die entsprechende Bi-Bestimmungsmethode siehe Vancea, M., u. M. Voluşniuc; Stud. Cercet. Chim. (Cluj) **10**, 269 (1959); vgl. diese Z. **178**, 217 (1960). A. Kurtenacker

Zirkonium. *Die gravimetrische Bestimmung mit Thioäpfelsäure* läßt sich nach Suseela B. Sant und B. R. Sant[1] in 0,2 n salpetersaurer oder 0,1 n salzsaurer Lösung durchführen. Der Niederschlag, der nur annähernd der Formel (OOC · CHSH · CH_2 · COO)ZrO entspricht, wird durch Glühen in ZrO_2 übergeführt. Hg^{II}, Th und Bi stören. Letzteres kann mit H_2S abgetrennt werden, die anderen beiden Metalle werden durch geeignete Arbeitsweise in Lösung gehalten. Freie Schwefelsäure oder Sulfationen dürfen keinesfalls anwesend sein. — *Ausführung.* Etwa 150 ml der Zirkonylnitratlösung versetzt man mit so viel Salpeter- oder Salzsäure, daß sie daran 0,2 bzw. 0,1 n wird, ferner mit 15—50 ml einer 2%igen wäßrigen Lösung von Thioäpfelsäure und erhitzt 30 min auf 80—90° C. Man läßt

noch 1 Std stehen, filtriert (Whatmanfilter Nr. 42), wäscht mit heißem Wasser und verglüht zu ZrO_2. — *Bei Gegenwart von* Hg^{II} filtriert man den Niederschlag, wenn er 30 min bei 80—90° C gestanden hat, sofort. — Um die *Störung durch Thorium* zu umgehen, fällt man in 0,2 n salpetersaurer Lösung mit 50—80 ml Reagenslösung, erhitzt 30 min auf 80—90° C, filtriert aber erst nach weiteren 2 Std. Dann wäscht man mit 0,2 n Salpetersäure, anschließend mit heißem Wasser und verglüht zu ZrO_2. Im Filtrat kann Th bestimmt werden.

[1] Analyt. Chemistry **32**, 379—380 (1960). Mount Holyoke Coll., South Hadley, Mass. und Univ. Baton Rouge, La. (USA). G. Denk

Eine komplexometrische Methode zur Bestimmung von Zirkonium in Erzen und Konzentraten beschreiben V. F. Lukjanov und E. M. Knjazeva[1]. Aus der Lösung der in üblicher Weise aufgeschlossenen Probe wird durch Zusatz von a) Ammoniak oder b) Natronlauge Zirkonium ausgefällt. Der Niederschlag wird filtriert und 6—8mal bei a) mit 2%iger Ammoniumchloridlösung, die etwas Ammoniak und H_2O_2 enthält, bei b) mit 5%iger Natronlauge gewaschen. Dann löst man den Niederschlag durch Zugabe von heißer 2 n Salzsäure, versetzt gegebenenfalls mit Ascorbinsäure, um Eisen zu reduzieren, und gibt zu der siedenden Lösung einen abgemessenen Überschuß von 0,05 n ÄDTA-Lösung. Man läßt 2—3 min sieden, stellt auf p_H 2,3—2,4 (gegen α-Dinitrophenol) ein und titriert mit Thoriumnitratlösung den Reagensüberschuß gegen Arsenazo oder Xylenolorange zurück. Die Methode ergibt im Bereich von 2—40% Zr Ergebnisse mit einem Fehler von ± 0,6%.

[1] Ž. anal. Chim. **15**, 69—72 (1960) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.)
H. Wunderlich

Über die spektralphotometrische Bestimmung von Hafnium mit Xylenolorange berichtet K. L. Cheng[1]. In perchlorsaurer Lösung bildet Hafnium einen purpurrot gefärbten Komplex, dessen Absorptionsmaximum bei 535—540 nm liegt. Der molare Extinktionskoeffizient beträgt 48700. Das analog reagierende Zirkonium kann zwar mit Wasserstoffperoxyd maskiert werden, jedoch ist eine einwandfreie Bestimmung von Hafnium neben Zirkonium zur Zeit noch nicht durchführbar. Durch Zusatz von Hydroxylaminhydrochlorid wird der störende Einfluß von Eisen und Wismut eliminiert. In Gegenwart von Fluorid wird Berylliumchlorid als demaskierendes Agens verwandt. — *Bestimmung von Hafnium in Legierungen.* 0,1—1,0 g der Probe mit 0,5—0,01% Hf werden in einem Gemisch von 15 ml konz. Salzsäure und 5 ml konz. Salpetersäure unter Erwärmen gelöst. Zur Zersetzung von Carbiden gibt man 2 g Ammoniumpersulfat zu und kocht die Lösung auf. Nach Zusatz von 10 ml Schwefelsäure (1 + 1) (bei 1 g Einwaage 20 ml) wird bis zum Auftreten von Nebeln eingeengt. Man nimmt mit 75 ml Wasser auf und elektrolysiert an einer Quecksilberkathode bei 15—20 A bis zum negativen Ausfall des Tüpfeltestes auf Chrom. Das Lösungsvolumen soll 100 ml, bei Einwaagen von 1 g 200 ml betragen. Die Lösung wird bis zum Verschwinden einer etwaigen vorhandenen gelben Färbung aufgekocht. Für Probeneinwaagen unter 0,5 g werden 40 mg Titan (als Titansulfatlösung) als Copräcipitans zugefügt, und unter Rühren wird mit Ammoniaklösung (1 + 1) ein p_H-Wert von 8—9 eingestellt. Die Lösung wird aufgekocht und der Niederschlag abfiltriert. Nach dreimaligem Waschen mit heißer 1%iger Ammoniumnitratlösung wird der Niederschlag mit 25 ml heißer 0,8 n Perchlorsäure gelöst, Filter und Kolben werden mit 0,8 n Perchlorsäure nachgewaschen. Das Gesamtvolumen wird mit Wasser auf 40 ml gebracht. Man versetzt 20 ml davon mit 1 ml 1%iger NaCl-Lösung in 1%iger Thioglykolsäure sowie 3 ml 0,05%iger, wäßriger Xylenolorangelösung und ergänzt das Volumen mit Wasser auf 25 ml. Bei Hafniumgehalten von etwa 0,5% wird nur ein Aliquot von 10 ml entnommen und das Volumen mit 0,3 n Per-

chlorsäure, nach den oben beschriebenen Zusätzen, auf 25 ml aufgefüllt. Gegen einen Blindansatz wird die Absorption bei 535 nm gemessen. Beleganalysen zeigen befriedigende Ergebnisse.

[1] Talanta (London) **3**, 81—90 (1959). Kelsey-Hayes Co., New Hartford, N.Y. (USA). H. Zimmer

Über die argentometrische Bestimmung von Ammoniak, Ammoniumion und organisch gebundenem Stickstoff mit Variaminblau als Indicator, berichten L. Erdey, K. Vigh und L. Pólos[1]. Nach Fällung des Ammoniums als Tetraphenylborat kann man den Niederschlag in Aceton-Wasser lösen und mit Silbernitratlösung und Variaminblau als Indicator titrieren. Man kann auch eine abgemessene Menge Fällungsreagens zur Ammoniumsalzlösung geben und den Reagensüberschuß zurücktitrieren. In Gegenwart von Schwermetallionen fällt man das Ammoniumion entweder in saurer Lösung (p_H 2) oder ohne anzusäuern in Gegenwart von ÄDTA. In Gegenwart von K-, Rb-, und Cs-Ionen muß das Ammoniak zunächst durch Destillation abgetrennt werden. Organisch gebundener Stickstoff wird durch Kjeldahl-Aufschluß in Ammoniak übergeführt. — *Ausführung.* Die annähernd neutrale Probelösung mit 5—50 mg (am günstigsten 20—50 mg) Ammoniumionen wird so verdünnt, daß auf 1 mg NH_4^+ 8 ml Lösung kommen. Mit je 1 ml 0,1 n Essigsäure je 50 ml Lösungsvolumen stellt man auf p_H 3—5 ein und fällt unter ständigem Rühren mit 1 ml 0,1 m Na-Tetraphenyloboratlösung (siehe unten) je Milligramm NH_4^+ (50%iger Reagensüberschuß). Nach etwa 5 min wird die Lösung durch ein feinporiges Filter filtriert und der Niederschlag mit 50 ml Waschflüssigkeit (siehe unten) in 4—6 Portionen dekantiert. Das Filter mit Niederschlag wird in das Becherglas übergeführt und, je nach Niederschlagsmenge, mit 6—60 ml Aceton versetzt. Nach Lösen des Niederschlages fügt man 1 ml 2 n Essigsäure und 2—3 Tr. Variaminblauacetatlösung zu und titriert unter ständigem Umrühren mit 0,05 n Silbernitratlösung bis zum Erscheinen der violetten Farbe. Gegen Ende der Titration ist die Lösung nach Zusatz jedes einzelnen Tropfens kräftig 15—30 sec umzuschwenken. Das Verfahren liefert befriedigende Werte. — *0,1 m Na-Tetraphenyloboratlösung.* Man löst 3 g des handelsüblichen Produktes in 100 ml Wasser, gibt 0,5 g Aluminiumoxyd zu, schüttelt 5 min und filtriert. Die Lösung ist höchstens 3 Tage haltbar (0,6 ml entspricht 1 mg NH_4^+). — *Waschlösung.* 0,1—0,2 g des nach der Untersuchungsvorschrift gewonnenen Ammoniumtetraphenyloboratniederschlages werden mit 1 l Wasser 25 min geschüttelt und zur Klärung mit 2—3 g Aluminiumoxyd versetzt. Nach fünfminutigem Schütteln wird die Lösung filtriert.

[1] Talanta (London) **3**, 1—5 (1959). Techn. Univ. Budapest (Ungarn). H. Zimmer

Nitrate und organische Azo-, Diazo-, Nitroverbindungen können, wie L. Erdey, L. Pólos und Z. Gregorowicz[1] berichten, nach Reduktion zu Ammoniak nach dem vorstehend beschriebenen Verfahren bestimmt werden. Die Reduktion der Nitrate erfolgt entweder in saurer Lösung mit „ferrum reductum" in Gegenwart von Nickelsulfat oder im alkalischen Medium mit Devarda-Legierung. Organische Verbindungen werden zunächst mit Schwefelsäure-Salicylsäure zersetzt, anschließend wird der Stickstoff nach Kjeldahl in Ammoniak übergeführt. — *Ausführung. Nitratreduktion in saurer Lösung.* Die zu untersuchende Substanz mit 1—120 mg Nitrat wird im Kjeldahl-Kolben mit 0,5 g feingepulvertem „ferrum reductum", 0,3 g Nickelsulfat und 15 ml 2 n Schwefelsäure über einem Mikrobrenner erwärmt. Nach 1 Std langem Kochen ist die Reduktion beendet; die Lösung wird abgekühlt, mit 10—15 ml 0,2 m Na-Acetatlösung sowie 60 ml 0,2 m ÄDTA-Lösung versetzt, worauf das Ammoniak wie oben angegeben bestimmt wird. In 0,01 n Lösungen beträgt die Standard-Abweichung $\pm$ 0,25%. In Gegenwart störender Ionen wird das

Ammoniak durch Destillation abgetrennt. — *Alkalische Reduktion.* Benutzt wird eine einfache Destillationsapparatur. Die bei der acidimetrischen Bestimmung nach Reduktion mit Devarda-Legierung auftretenden positiven Fehler werden durch die argentometrische Bestimmung eliminiert. Die zu untersuchende Probe mit 6—150 mg Nitrat wird in 50 ml Wasser gelöst und mit 2 g gepulverter Devarda-Legierung und 50 ml 30%iger Natriumhydroxydlösung versetzt. Die Vorlage wird mit 50 ml 0,1 n Schwefelsäure beschickt. Nach der Destillation werden zur erhaltenen Lösung 50 ml 0,2 m Na-Acetatlösung (bei Verwendung von 40 ml gesätt. Borsäurelösung als Vorlage entfällt das Acetat) und 50 ml 0,2 m ÄDTA-Lösung zugegeben. Das Ammoniak wird nach der gegebenen Vorschrift bestimmt. — Zur Bestimmung des Stickstoffs in *organischen Substanzen*, in *Azo-, Diazo- oder Nitroverbindungen* muß auf die sehr ausführliche Originalvorschrift hingewiesen werden.

[1] Talanta (London) **3**, 6—13 (1959). Techn. Univ., Budapest (Ungarn) und Techn. Inst., Gliwice (Polen). H. Zimmer

Verschiedene Methoden zur colorimetrischen Bestimmung von Mono-(Ortho)-phosphat neben kondensierten Phosphaten haben K. K. Tewari und P. S. Krishnan[1] nachgeprüft. Die linear kondensierten Phosphate verhindern die Farbentwicklung durch Monophosphat nach der Methode von O. H. Lowry und J. A. Lopez[2]. Die höheren Glieder der Polyphosphate haben einen größeren Einfluß als die niedrigen (Di-, Tri-, Tetraphosphat). Die cyclischen Metaphosphate stören nicht. Die Störung durch Polyphosphate wird teilweise aufgehoben, wenn man die entwickelte Farbe erst nach 90minütigem Stehenlassen mißt. Niedrige Konzentrationen an Cu und Ni und höhere Konzentrationen an Fe^{III} heben die Störung ganz oder zum Teil auf (Methode für Routineanalysen ungeeignet!). Keines der Polyphosphate stört die Monophosphatbestimmung mittels Isobutanolextraktion nach I. Berenblum und und E. Chain[3].

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **22**, 111—117 (1960). Univ. Lucknow (Indien). — [2] J. biol. Chemistry **162**, 421 (1946). — [3] Biochemic. J. **32**, 295 (1938); vgl. diese Z. **124**, 60 (1942). W. Dewald

Zur volumetrischen Bestimmung von Arsenat eignet sich nach Mitteilung von M. Vancea und M. Voluşniuc[1] die Titration mit Wismutnitratlösung unter Verwendung einer Dithizonlösung in Chloroform als Indicator. Das Verfahren ist eine Umkehrung der entsprechenden Titrationsmethode von Wismut[2]. — *Ausführung.* Man versetzt 10—20 ml der Arsenatlösung (0,04—0,08 g KH_2AsO_4 enthaltend) mit 1 ml 0,03%iger Lösung von Dithizon in Chloroform und läßt die Wismutnitratlösung (5 g Bi/l + 2% freie Salpetersäure) unter ständigem starken Schütteln zutropfen, bis die ursprünglich grüne Indicatorlösung eine graue Übergangsfarbe angenommen hat. Der erste überschüssige Tropfen der Maßlösung verursacht dann eine bleibende Orangefärbung. Der Titer der Wismutnitratlösung wird gravimetrisch als $BiPO_4$ festgestellt.

[1] Stud. Cercet. Chim. (Cluj) **10**, 291—293 (1959) [Rumänisch]. (Mit franz. Zus.fass.) Chem. Inst. Akad. R.P.R., Filiale Cluj (Rumänien). — [2] Vancea, M., u. M. Voluşniuc: Stud. Cercet. Chim. (Cluj) **10**, 279 (1959); vgl. diese Z. **178**, 217 (1960). A. Kurtenacker

Wismut. *Die gravimetrische Bestimmung des Wismuts mit Dimethylglyoxim* (H_2DMG) gelingt nach P. F. Lott und R. K. Vitek[1] bei p_H 11—11,5 in Gegenwart von ÄDTA, wodurch die Bildung von Wismuthydroxyd vermieden wird. Die Ausfällung des gelben Niederschlags von der Formel Bi_2O_2DMG wird durch Komplexbildner, wie Tartrat, Citrat, Ascorbinsäure und einige Komplexone, verhindert.

Al, As, Ba, Cd, Ca, Co, Cu, Pb, Mg, Hg, Ni, Pd, Pt, Ag, Sr, W und Zn werden durch ÄDTA und KCN in Lösung gehalten. — *Ausführung.* 100 ml der Probelösung mit 50—500 mg Bi versetzt man je nach der Menge des Wismuts und der Fremdionen mit mindestens 10—30 ml 0,1 m ÄDTA-Lösung (Dinatriumsalz), bringt sie mit Ammoniak auf p_H 7, fügt 0,5—1 g KCN und einen 30%igen Überschuß an Dimethylglyoximlösung (0,01 m Lösung in Äthanol oder 0,1 m Lösung in Aceton) hinzu und stellt mit Natronlauge p_H 11,5 ein. Man läßt 45 min bei 60—70° C stehen, filtriert nach dem Abkühlen, wäscht mit Wasser und trocknet bei 105—125° C bis zur Gewichtskonstanz (Faktor 0,7410).

[1] Analyt. Chemistry **32**, 391—393 (1960). Univ. Rolla, Mo. (USA). G. Denk

Nach Mitteilung von M. Vancea und M. Voluşniuc[1] kann Wismut *gravimetrisch als Oxalat* bestimmt werden, indem man mit Oxalsäure aus schwach salpetersaurer Lösung fällt und nach dem Trocknen bei Raumtemperatur als $BiH(C_2O_4)_2 \cdot {}^1/_3\, H_2O$ wägt. Die Resultate sind auf etwa ± 0,1% (rel.) genau. Metalle, deren Oxalate in Salpetersäure löslich sind (Ag, Pb, Cu, Fe, Co, Ni), sollen nach Meinung der Verff. nicht stören. — *Ausführung.* Man versetzt 10—25 ml der etwa 2% HNO_3 enthaltenden Wismutnitratlösung (ungefähr 0,1 g Bi) tropfenweise unter ständigem Rühren mit etwa dem doppelten Volumen 0,1 n Oxalsäurelösung. Der Niederschlag, der sich in der Kälte sofort absetzt, wird in einen Filtertiegel filtriert, 5—6mal mit 2%iger Salpetersäure, dann je 4—5mal mit Alkohol und Äther gewaschen, im Vakuum getrocknet und gewogen. Der Umrechnungsfaktor auf Bi ist $f = 0{,}5331$.

In drei weiteren Mitteilungen beschreiben M. Vancea und M. Voluşniuc[2] *volumetrische Bestimmungsmethoden*, die auf der *Fällung des Wismuts als Phosphat* $(BiPO_4)$[2a], *Arsenat* $(BiAsO_4)$[2b] und *Oxalat* $[Bi_2(C_2O_4)_3]$[2c] beruhen. Als Indicator dient in allen Fällen eine Dithizonlösung in Chloroform, deren Orangefarbe am Ende der Titration über eine graue Zwischenfarbe in Grün übergeht. Die graue Farbe entspricht dem Äquivalenzpunkt. Nach den mitgeteilten Beleganalysen wird bei den Bestimmungen von 0,05—0,1 g Bi eine Genauigkeit von etwa 0,1—0,2% erreicht. Das Phosphatverfahren soll auch zur Wismutbestimmung neben Al^{3+}, Hg^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Ba^{2+} geeignet sein. — *Ausführung.* Man versetzt 10—20 ml der etwa 2% HNO_3 enthaltenden Wismutnitratlösung (0,05—0,1 g Bi) mit 1 ml 0,03%iger Lösung von Dithizon in Chloroform, für die Titration mit Oxalsäure außerdem mit 5 ml Acetatpuffer (6 ml Eisessig + 13,6 g Natriumacetat im Liter). Dann fügt man die Maßflüssigkeit (0,1 m KH_2PO_4- oder K_2HPO_4-, 0,04 m KH_2AsO_4-, 0,1 m $C_2O_4H_2$-Lösung) tropfenweise unter jedesmaligem Schütteln zu, bis die graue Übergangsfärbung erreicht ist. — Der Oxalatniederschlag hat im Äquivalenzpunkt die Zusammensetzung $Bi_2(C_2O_4)_3$; er verwandelt sich mit Oxalsäureüberschuß in $BiH(C_2O_4)_2$.

[1] Stud. Cercet. Chim. (Cluj) **10**, 283—286 (1959) [Rumänisch]. (Mit russ. u. franz. Zus.fass.) Chem. Inst., Akad. R.P.R., Filiale Cluj (Rumänien). — [2] Stud. Cercet. Chim. (Cluj) **10**, (a) 269—273, (b) 279—281, (c) 287—290 (1959) [Rumänisch]. (Mit russ. u. franz. Zus.fass.) A. Kurtenacker

Bei der Papierchromatographie von salpetersauren Wismutnitratlösungen mit einem Laufmittel aus n-Butanol und wäßriger 2,5 n Thiocyanwasserstoffsäure (140:40) auf Whatman-Papier Nr. 41 beobachtet E. C. Martin[1] die Bildung von Mehrfachflecken, deren Ausmaß von der Salpetersäurekonzentration in der aufgetragenen Wismutlösung abhängt. Verf. deutet diese Erscheinung, indem er den papierchromatographischen Transport als Folge von Adsorptions- und Desorptionsprozessen auffaßt und der Salpetersäure eine spezifische adsorptionsverstärkende

Wirkung auf das Papier zuschreibt. Zum Beleg errechnet der Verf. aus der Fleckengröße, der Wismutmenge und der spezifischen Papieroberfläche (19 m^2/g) die von einem Wismution belegte Fläche zu 200 $Å^2$, die größenordnungsmäßig als richtig angesehen wird. Bei der Chromatographie salzsaurer, bromwasserstoffsaurer und perchlorsaurer Wismutlösungen im eingangs genannten Laufmittel treten die beschriebenen Anomalien nicht auf.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **22**, 228—230 (1960). Univ. of N.S W., Sydney (Australien). H. Hartkamp

Die Trennung des Niobs oder Tantals von Zirkonium mit Salicylhydroxamsäure beschreiben A. K. Majumdar und A. K. Mukherjee[1]. Titan wird durch Zugabe von Wasserstoffperoxyd getarnt. — *Arbeitsvorschrift.* Zu Lösungen, die 6,7—133 mg Zirkonium und 7,5—165 mg Niob enthalten und mit 5 Vol-% Schwefelsäure und 5—10 Vol-% Wasserstoffperoxyd (20%ig) versetzt werden, wird ein Überschuß einer frisch bereiteten heißen 1%igen Salicylhydroxamsäurelösung zugegeben. Anschließend wird mit verd. Ammoniak auf $p_H > 2{,}5$ gebracht. Der Zirkoniumniederschlag wird filtriert, mit einer heißen Waschlösung (1% NH_4NO_3 +0,1% Fällungsreagens) gewaschen und zu ZrO_2 verglüht. Zur Kontrolle wird der gewogene Rückstand mit der 10fachen Menge $KHSO_4$ aufgeschlossen, die erhaltene Schmelze mit einem Gemisch von 140 ml Wasser, 50 ml 20%igem Wasserstoffperoxyd und 10 ml konz. Schwefelsäure extrahiert und die Fällung wiederholt. Die vereinigten Filtrate und Waschlösungen werden auf 200 ml eingedampft. Nach dem Verkochen des Wasserstoffperoxyds wird das Niob mit N-Benzoyl-N-phenylhydroxylamin[2] oder mit Kupferron[3] gefällt. Die Testanalysen ergeben eine gute Übereinstimmung von eingesetztem und erhaltenem ZrO_2 und Nb_2O_5. Tantal (analoge Arbeitsvorschrift wie für Zirkonium) fällt teilweise mit dem Zirkonium aus. Die ZrO_2-Werte weisen daher, auch nach Wiederholung der Fällung, einen positiven Fehler von 1—3 mg auf.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **22**, 25—26 (1960). Jadavpur Univ., Calcutta (Indien). — [2] Majumdar, A. K., u. A. K. Mukherjee: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **19**, 23 (1958); vgl. diese Z. **166**, 150 (1959). — [3] Pied, H.: C. R. Acad. Sci. **15**, 1071 (1923). R. Hönigschmid-Grossich

Absolutbestimmung von Schwefel-35. *Die Absolutbestimmung von ^{35}S im Proportionalzähler* gelingt nach W. F. Merritt u. R. C. Hawkings[1] durch Überführung der ^{35}S-Verbindung in $^{35}SO_2$, das anschließend im Verhältnis 1:100 mit Methan gemischt und in das Zählrohr eingeführt wird. Die Plateaueigenschaften der üblichen Methanfüllung werden durch die Gegenwart von SO_2 nicht beeinträchtigt. — Die als Sulfat vorliegende ^{35}S-Lösung wird auf 10^5 Zerfälle/sec · ml verdünnt und mit 25 ppm Lithiumsulfat als Träger und 2 ppm Kaliumdichromat versetzt. Durch Zugabe von Kupfersulfatlösung wird die zum Füllen des Zählrohres notwendige Menge SO_2 eingestellt, das gesamte Sulfat anschließend als $BaSO_4$ gefällt und verglüht. In einer speziellen Apparatur erfolgt nun die Darstellung von ^{35}S-aktivem SO_2 indem das pulverisierte $BaSO_4$ mit rotem Phosphor vermischt und unter vermindertem Druck in O_2-Atmosphäre erhitzt wird. Die Reaktion dauert nur 20 sec. Die Apparatur wird anschließend evakuiert, wobei sich das gebildete ^{35}S-aktive SO_2, in einer Kühlfalle (flüssiger Sauerstoff) sammelt. Vor dem Einsatz ist eine erneute Reinigung des SO_2 durch Destillation im Vakuum mit vorgeschalteter Kühlfalle aus flüssigem Stickstoff notwendig. Ein Anteil des bei Trockeneis-Temperatur flüchtigen SO_2 wird mit Methan gemischt und in die beiden Zählrohre eingefüllt, deren Volumen ein Verhältnis von etwa 1:2 aufweisen. Beide Zählrohre sind mit etwa 7,5 cm Blei abgeschirmt und besitzen Nulleffekte von 1 bzw. 2 Imp./sec

und eine Plateaulänge von 100 V bei 1% Neigung. Aus den ermittelten Aktivitätsraten kann bei bekanntem Mischungsverhältnis und Volumen der Zähler auf die Zerfallsrate der Standardlösung geschlossen werden. Mehrere Belegwerte stimmen gut überein.

J. S. Merritt, J. G. V. Taylor, W. F. Merritt und P. J. Campion[2] schlagen außerdem eine neue $4\pi\beta$-Methode vor und vergleichen sie mit mehreren bekannten Verfahren. Danach wird die ^{35}S-Sulfatlösung, die je Milliliter 25 μg Lithiumsulfat enthält, mit kolloidaler Kieselsäure versetzt und dann auf der Trägerfolie eingedampft. Auf diese Weise gelingt es, gleichmäßig dicke Schichten zu erzielen und die Selbstabsorption, die den größten Korrekturfaktor verursacht, in vernünftigen Grenzen zu halten. Gute Ergebnisse werden bei einem Flächengewicht von etwa 2 μg/cm^2 erzielt, wobei die SiO_2-Menge ungefähr 10% beträgt. Die Wirkung der kolloidalen Kieselsäure scheint darauf zu beruhen, daß sie das Kristallwachstum hemmt, die Ausbildung einzelner großer Kristalle mit entsprechend starker und schwankender Selbstabsorption also verhindert. Daher müssen in der Probelösung alle Einflüsse vermieden werden, die ein Ausfällen der Kieselsäure verursachen könnten. Die Standardabweichung der Verfahrens beträgt etwa 1%.

[1] Analyt. Chemistry **32**, 308—310 (1960). Atomic Energy of Canada Ltd., Chalk River, Ont. —[2] Analyt. Chemistry **32**, 310—313 (1960). A. Spang

Eine Methode zur halbquantitativen Bestimmung von Schwefelsäure läßt sich nach Mitteilung von J. de Oliveira Meditsch[1] auf die Reaktion mit Filterpapier bei höheren Temperaturen gründen. Trägt man Schwefelsäure-Wasserlösungen auf Filterpapier (Whatman Nr. 1) auf und erhitzt 10 min auf 170° C, so ergeben sich je nach der Säurekonzentration gelbe, braune oder schwarze Flecken. Zum Vergleich dienen Farbskalen, die man mit steigenden Schwefelsäurekonzentrationen (0,5 bis 100,0 μg Schwefelsäure in je 2 μl Lösung bzw. 3,0 bis 50,0 μg Schwefelsäure in je 10 μl Lösung) herstellt. Die Farben sind gut reproduzierbar und beständig. — Auf die gleiche Art sollen auch *Perchlorsäure* und *Phosphorsäure* bestimmbar sein.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **22**, 100 (1960). Escola de Engenharia, Pôrto Alegre, R.G.S. (Brasilien). A. Kurtenacker

Dichromate, Metaphosphate und Metavanadate bestimmen J. D. van Norman und R. A. Osteryoung[1] durch Umsetzen mit Natriumcarbonat in einer Chlorid- oder Nitratschmelze. Das nach den Gleichungen $Cr_2O_7^{2-} + CO_3^{2-} = 2\,CrO_4^{2-} + CO_2$, $VO_3^- + CO_3^{2-} = VO_4^{3-} + CO_2$ und $PO_3^{2-} + CO_3^{2-} = PO_4^{3-} + CO_2$ entwickelte Kohlendioxyd wird mit einem Quecksilbermanometer auf 0,1 mm genau gemessen. Die Fehler liegen meist unter $\pm$ 1%. Pyrosulfat entwickelt mit einer Nitratschmelze Stickoxyde und ebenso Dichromat, wenn ein Kation vorhanden ist, welches ein schwer lösliches Chromat bildet, z. B. Barium. — *Ausführung.* Zu 50 g des eutektischen Gemisches aus KNO_3 und $NaNO_3$ gibt man die Einwaage, evakuiert und erhitzt auf 300° $\pm$ 5° C. Dann schließt man die Apparatur gegen die Pumpe ab, gibt unter Vakuum einen Überschuß an Na_2CO_3 hinzu und mißt nach 15 min die abgespaltene Menge CO_2. — Über das KCl-LiCl-Eutektikum leitet man zunächst gasförmigen Chlorwasserstoff, erhitzt im Laufe von 2 Std auf 400° C, leitet noch 30 min Chlorwasserstoff durch die Schmelze, evakuiert 1 Std, um den gelösten Chlorwasserstoff wieder zu entfernen, gibt die Probe dazu, evakuiert und verfährt weiter wie oben.

[1] Analyt. Chemistry **32**, 398—400 (1960). Rensselaer Polytechn. Inst., Troy, N.Y. (USA). G. Denk

Molybdate lassen sich nach M. Umeda[1] durch Fällung als Bleimolybdat aus essigsaurer Lösung und Rücktitration des Bleiüberschusses bei p_H 10 mit ÄDTA-Lösung und Brenzcatechinviolett als Indicator bestimmen. Cu^{2+}, Fe^{3+}, Co^{2+}, Ni^{2+},

Zn^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Ba^{2+}, Ag^{+} und Hg^{2+} stören nicht, wenn die Menge unter 1% bleibt. Sulfat und Phosphat dürfen jedoch nicht zugegen sein. Die Ergebnisse entsprechen denen der gravimetrischen Standardmethode. Der Fehler beträgt etwa $\pm$ 0,2%.

[1] Jap. Analyst **9**, 172—175 (1960) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Shinagawa Plant, Sankyo Co., Ltd. (Japan). KLAUS BRODERSEN

Über einen zuverlässigen automatischen Analysator für fluorhaltige Gasgemische, dessen Prinzip auf der Messung der durch die *Reduktion von Fluor mit Schwefeldioxyd* erfolgenden Änderung des Molstroms beruht, berichtet C. W. WEBER[1]. Will man z. B. den Zu- und Abstrom von Fluor bei der Darstellung von Uranhexafluorid aus Urantetrafluorid und Fluor verfolgen, so beobachtet man die Änderung des Molverhältnisses und findet dadurch die jeweilige Konzentration an Fluor; je Mol Fluor ändert sich dieses Verhältnis bei der Reaktion $SO_2 + F_2 \rightarrow SO_2F_2$ (inert) um 1. Das Probegas wird vorzugsweise mit Stickstoff verdünnt, es verweilt je nach der Fluorkonzentration 2,5—5,0 sec im Reaktor, der Druck liegt unterhalb 150 mm Hg. Das ganze System mit Ausnahme des Reaktors wird auf einer Temperatur von 71 $\pm$ 2° C gehalten, der Reaktor selbst hat die Temperatur 200 $\pm$ 1° C. Die aus dem Analysator austretenden Gase treffen auf aktiviertes Aluminiumoxyd (Vakuumpumpe). Die Genauigkeit der Messung beträgt $\pm$ 1% Fluor.

[1] Analyt. Chemistry **32**, 387—391 (1960). Union Carbide Nuclear Co., Oak Ridge, Tenn. (USA). LISELOTT JOHANNSEN

Zur Bestimmung von Chlorat und Perchlorat nebeneinander reduziert A. DE SOUSA[1] in einem Teil der Probe Chlorat und Perchlorat gemeinsam durch Erhitzen mit Ammoniumchlorid, in einem anderen Teil der Probe Chlorat allein durch Einwirkung von Eisen(II)-lösung. Das erhaltene Chlorion wird komplexometrisch nach dem Verfahren von FLASCHKA und HUDITZ[2] bestimmt. Die Analyse erfordert weniger als 4 Std gegenüber 5—5,5 Std, die für die gravimetrische Bestimmung benötigt werden. Von vornherein anwesendes Chlorid kann durch direkte Fällung als AgCl bestimmt werden. — *Ausführung.* Zur Summenbestimmung von Chlorat und Perchlorat erhitzt man einen Teil der Probe im bedeckten Platintiegel mit der 12fachen Menge Ammoniumchlorid 1—2 Std auf eine Temperatur unter dem Schmelzpunkt der zurückbleibenden Chloride und wiederholt diese Behandlung mit weiterem Ammoniumchlorid. Im Rückstand wird AgCl wie üblich gefällt. Zur Reduktion von Chlorat allein erhitzt man einen zweiten Teil der Probe (maximal 200 mg ClO_3^- enthaltend) mit 50 ml $FeSO_4$-Lösung und erhält 15 min im Sieden. Nach dem Erkalten löst man ausgefallene basische Eisen(III)-salze in Salpetersäure und fällt mit Silbernitratlösung. Die AgCl-Niederschläge werden in Gooch-Tiegeln abfiltriert, zuerst mit 1%iger $AgNO_3$-Lösung, dann mit 1%iger Salpetersäure gewaschen, in 0,1 m $K_2Ni(CN)_4$-Lösung gelöst und nach FLASCHKA[2] weiterbehandelt.

[1] Chemist-Analyst **49**, 18 (1960). Univ. Lissabon (Portugal). — [2] FLASCHKA, H., u. F. HUDITZ: diese Z. **137**, 104 (1952); FLASCHKA, H.: Mikrochem. ver. Mikrochim. Acta **40**, 21 (1952); vgl. diese Z. **143**, 203 (1954). A. KURTENACKER

Einen Nachweis von Perjodat neben Jodat beschreibt A. BERKA[1]. Perjodat reagiert mit Luminol und Wasserstoffperoxyd unter Ausbildung einer gut sichtbaren violetten Luminescenz, während Jodat keinen Einfluß auf die Reaktion hat. Bei Anwendung von 0,5 ml Reagenslösung lassen sich in einem Gesamtvolumen von 1,5 ml noch 2 μg Perjodat zuverlässig nachweisen. Die Empfindlichkeit beträgt pD 5,7. — *Reagenslösung.* Man löst 0,1 g Luminol in 10 ml konz. Ammoniak,

filtriert vom Unlöslichen ab und füllt mit Wasser auf 100 ml auf. Vor Gebrauch vermischt man 1 ml dieser Lösung mit 4 ml Wasser und 0,5 ml 0,3%iger Wasserstoffperoxydlösung.

[1] Collect. czechoslov. chem. Commun. **25**, 1224—1225 (1960). Univ. Prag (ČSR).
H. Zimmer

Eisen. *Im Rahmen seiner Untersuchungen über die analytische Anwendung von Xylenolorange* berichtet K. L. Cheng[1] über einen *Komplex von Eisen(III) mit dem Reagens*. Der purpurrote Komplex hat sein Absorptionsmaximum bei 550 nm. Die Reaktion ist empfindlicher als die üblichen zur photometrischen Bestimmung verwandten Eisenreaktionen, denn der molare Extinktionskoeffizient beträgt 26600. Die Komplexbildungskonstante ist $5 \cdot 10^5$. Zur optimalen Farbentwicklung muß die Säurekonzentration bei 0,04 n bis 0,06 n liegen. In perchlorsaurer Lösung ist im Bereich von 5—50 μg Fe/25 ml das Lambert-Beersche Gesetz voll erfüllt. Eisen(III) bildet mit dem Reagens einen 1:1 Komplex. Analog reagieren *Zirkonium* und *Hafnium*. Störungen durch Fremdionen sind im Original tabellarisch zusammengefaßt. Die Reaktion kann zur *Bestimmung* von *Eisen in einem dünnen Film von Nickel-Eisen (Permalloy)* herangezogen werden.

[1] Talanta (London) **3**, 147—150 (1959). Kelsey-Hayes, Co., New Hartford, N.Y., R.C.A. Labs., Princeton, N.J. (USA). H. Zimmer

Die Löslichkeit des Eisen(II)-Phenanthrolinjodid-Komplexes („Ferroinjodid") in organischen Lösungsmitteln benutzen F. Vydra und R. Přibil[1] zur *selektiven Abtrennung und photometrischen Bestimmung kleiner Mengen Eisen*. Grundlage des Verfahrens ist die Maskierung störender Elemente mit ÄDTA, Reduktion des Eisens mit Hydroxylammoniumchlorid, Zugabe von 1,10-Phenanthrolin und Kaliumjodid und nachfolgende Extraktion mit Chloroform. Zur *Aufstellung der Eichkurve* verdünnt man Standardlösungen, die in 1 ml 0,44—3,79 μg Eisen enthalten, auf etwa 10 ml, stellt mit Ammoniaklösung auf p_H 7—8 ein, fügt 5 ml 10%ige Hydroxylammoniumchloridlösung und 4 ml 0,05 m Phenanthrolinlösung hinzu und erwärmt 2 min auf 40—60° C. Nach dem Abkühlen versetzt man mit 5 ml 30%iger Kaliumjodidlösung, füllt auf 25 ml auf und extrahiert mit 25 ml Chloroform. Die Extinktion wird bei 510 nm gemessen. Bei den Analysenproben ohne Kobalt verfährt man in gleicher Weise, nur gibt man nach Einstellung des p_H-Wertes 1 g ÄDTA hinzu. Bei Anwesenheit von Kobalt wird nach Zugabe von ÄDTA und Einstellung des p_H-Wertes mit einigen Tropfen 10%iger Wasserstoffperoxydlösung das Kobalt oxydiert, das überschüssige Peroxyd verkocht und wie oben weiterverfahren. Die mitgeteilten Ergebnisse mit *reinem Kobalt*, *Bronze* und *anderen NBS-Proben* sind recht befriedigend.

[1] Talanta (London) **3**, 72—80 (1959). Chem. Inst., Akad. Wiss., Prag (ČSR).
H. Specker

Colorimetrische Bestimmungsmethoden für kleine Mengen von Nitroprussiat und Aquo- bzw. Ammonopentacyanoferrat(II) beschreiben B. Jaselskis und J. C. Edwards[1]. Zur Bestimmung des Nitroprussiats wird dessen roter *Isophoron*-Komplex (*3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexan-1-on*) mit einem Absorptionsmaximum bei 495 nm herangezogen; bei Aquo- und Ammonopentacyanoferraten(II) findet ein indigoblauer Azidkomplex: $[Fe(CN)_5N_3]^{4-}$ mit einem Absorptionsmaximum bei 560 nm Verwendung. — *Arbeitsvorschrift*en. a) 0,3—4 ml einer 0,005 m Lösung eines Aquo- bzw. Ammonopentacyanoferrates(II) werden in einem 50 ml-Meßkölbchen nacheinander mit 10 ml 1 m NaN_3-Lösung, 5 ml eines 1 m Phosphatpuffers p_H 7,7 und 1 ml einer 0,5%igen Wasserstoffperoxydlösung versetzt, anschließend bis zur Marke mit dest. Wasser aufgefüllt. Nach 5 min wird die Absorption gegen reines Wasser bei 560 nm gemessen. Hexacyanoferrat(II), das infolge

Hydrolyse Aquopentacyanoferrat(II) gibt, stört nicht bis zu einem Molverhältnis von 20:1; hingegen stört Cyanoferrat(III) schon bei einem Verhältnis von 2:1, ebenso stören CN^- und F^-. Wenn der Einfluß des Lichtes ausgeschaltet ist, stört Nitroprussiat nicht. Das Beersche Gesetz ist im Bereich von $5 \cdot 10^{-5}$ m bis $5 \cdot 10^{-4}$ m gültig. — b) 0,25—2,5 ml einer 0,005 m Nitroprussiatlösung werden in einem 50 ml Meßkölbchen mit genau 10 ml einer Isophoron-Äthanollösung (15 ml Isophoron + 235 ml Äthanol) versetzt und auf 40 ml verdünnt. Alle Arbeiten müssen möglichst im Dunkeln durchgeführt werden. Nach Zugabe von 5 ml 1 m HCO_3^-/CO_3^{2-}-Puffers p_H 10,2 wird zur Marke mit Wasser aufgefüllt. Etwa 7 min nach Zugabe des Puffers ist das Absorptionsmaximum erreicht, das ungefähr 3 min erhalten bleibt. In dieser Zeit wird die Absorption bei 495 nm gegen eine Leerlösung, die die gleichen Konzentrationen an Isophoron und Puffer aufweist, gemessen. — Die genaue p_H-Einstellung ist sehr wichtig, da z. B. bei p_H 10 der Endwert der Absorption nur langsam ansteigend erreicht wird, während bei Werten über 10,2, zwischen 10,5 und 11,15, nach relativ schnellem Erreichen eines Maximums ein Abfallen der Absorption beobachtet wird. Sind Aquopentacyanoferrate(II) in größeren Konzentrationen vorhanden, so müssen die erhaltenen Werte daraufhin korrigiert werden, da diese Komplexe bei 495 nm schwach Licht absorbieren. Bis zur 10fachen Menge stören CN^-, NO_2^-, F^- und Hexacyanoferrat(II) nicht. Das Beersche Gesetz ist im Bereich von $2{,}5 \cdot 10^{-5}$ bis $2{,}5 \cdot 10^{-4}$ m erfüllt. Im Gegensatz zur Azidkonzentration beim Aquopentacyanoferrat(II) ist die Absorption des roten Isophoron-Nitroprussiatkomplexes von der Konzentration des Isophorons abhängig. Eine Änderung von 0,08 auf 0,73 m läßt die Absorption um 3,5% absinken.

[1] Analyt. Chemistry **32**, 381—383 (1960). Univ. Ann Arbor, Mich. (USA).
R. Hönigschmid-Grossich

Eisen, Aluminium, Mangan, Calcium und Magnesium nebeneinander können mit *ÄDTA* nach Untersuchungen von S. Wakamatsu[1] folgendermaßen bestimmt werden: Man versetzt die salz- oder perchlorsaure Lösung bis zum Erreichen von p_H 2 mit Ammoniumacetat und titriert das *Eisen* mit ÄDTA-Lösung mit Salicylsäure als Indicator. Jetzt setzt man einen ÄDTA-Überschuß zu, stellt p_H 3 ein, kocht auf zur Reaktion mit dem *Aluminium* und titriert den ÄDTA-Rest mit Kupfersulfatlösung (α-Pyridyl-β-azonaphthol = PAN als Indicator) zurück. Man fügt wiederum einen ÄDTA-Überschuß zur Bindung des *Mangans* bei p_H 4,5 und 60° C zu und kann den ÄDTA-Rest nach 10 min wie oben zurücktitrieren. Die Summe des *Calcium*- und *Magnesiumgehaltes* der Probelösung läßt sich ansschließend bei p_H 10 durch Rücktitration eines nochmals zugesetzten ÄDTA-Überschusses bestimmen. In einem anderen Teil der Lösung fällt man das *Calcium* zunächst als Oxalat aus und erhält wie oben durch Rücktitration den *Magnesiumgehalt.*

[1] Jap. Analyst **9**, 238—243 (1960) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Tōta Seikō Co. (Japan). Klaus Brodersen

Über die Bestimmung von Kobalt durch Oxydation mit Kaliumcyanomolybdat(V) berichten B. Kratochvil und H. Diehl[1]. Kobalt(II) läßt sich in alkalischem Medium quantitativ durch das Reagens oxydieren. Die Bestimmung kann titrimetrisch oder coulometrisch durchgeführt werden. — *Maßanalytische Bestimmung.* Die Probelösung, mit etwa 50 mg Kobalt, wird mit 15 ml 25%iger Ammoniumcitratlösung, 25 ml konz. Ammoniaklösung und einem definierten Überschuß von Kaliumcyanomolybdat(V)-lösung (siehe unten) versetzt. Es wird mit einer 0,05 m Kobalt(II)-sulfatlösung unverzüglich zurücktitriert. Zur Endpunktserkennung dient ein p_H-Meter mit einem Platin-Kalomelelektrodensystem. Am Äquivalenzpunkt tritt ein Potentialsprung von 0,6 V auf. Die Lösung wird während der

Titration magnetisch gerührt. Die Bestimmung wird durch Eisen(III) nicht gestört, da dieses durch das Citrat maskiert wird. Eisen(II) muß mit Wasserstoffperoxyd oxydiert und der Überschuß des Peroxyds durch Kochen zerstört werden. Mangan(II) stört, da es ebenfalls oxydiert wird. Es wird aber nur in Gegenwart von Fluorid quantitativ in den vierwertigen Zustand übergeführt. — *Coulometrische Bestimmung.* Das Elektrodensystem besteht aus einer kreisförmigen Platingaze-Anode sowie aus einer Platinfolie-Kathode, die in einem 10 cm langen und 1 cm breiten Glasrohr steckt. Das Glasrohr ist am unteren Ende mit einer Glasfrittenscheibe abgeschlossen und wird mit Schwefelsäure (1 + 1) als Katholyt gefüllt. Zur Endpunktsindikation dient ein Platin-Kalomelelektrodensystem. Die Probelösung wird mit 10 ml 25%iger Na-Citratlösung und 15 ml konz. Ammoniaklösung versetzt. Für je 30 mg Kobalt werden etwa 0,5 g Kaliumcyanomolybdat(IV) zugegeben. (Man verwendet nicht die Mo^{V}-Verbindung, da diese in festem Zustand durch Einwirkung von Licht zersetzt wird.) Die Lösung wird automatisch gerührt. Eisen und Mangan stören. Die Ergebnisse sind bei beiden Verfahren befriedigend. — *Herstellung der Kaliumcyanomolybdat(V)-lösung.* 36 g des nach der Methode von H. H. Willard und R. C. Thielke[2] hergestellten Kaliumcyanomolybdats(IV) werden in 500 ml Wasser gelöst. Die Lösung wird mit 10 g Bleidioxyd und 4 ml konz. Schwefelsäure versetzt und unter Lichtabschluß etwa 5 min gerührt. Es wird vom überschüssigen Bleidioxyd und Bleisulfat abfiltriert, und nach Ergänzung des Volumens auf 1000 ml wird die Lösung potentiometrisch gegen Kobalt(II)-sulfatlösung standardisiert.

[1] Talanta (London) **3**, 346—350 (1960). State Univ., Ames Iowa (USA). — [2] J. Amer. chem. Soc. **57**, 2609 (1935). H. Zimmer

Palladium. I. Dema und V. Voicu[1] empfehlen ein spektrophotometrisches Bestimmungsverfahren für Palladium, das auf der Reaktion mit *Thiosalicylsäure* beruht. Diese gibt mit Palladiumion in schwachsaurem wäßrigem Medium einen orangeroten Niederschlag, wahrscheinlich von der Zusammensetzung $\left[C_6H_4\begin{smallmatrix}COOH\\S\end{smallmatrix}\right]_2Pd$. In 50%igem Aceton bleibt die Lösung klar, die orangerote Färbung ist 2—3 Tage beständig. Sie besitzt bei p_H 2—4 ein Absorptionsmaximum bei 428 nm (Filter S 42 des Pulfrich-Photometers). Im Konzentrationsbereich 0,5—2,6 µg Pd/ml ist das Beersche Gesetz erfüllt. Au^{3+}, Fe^{3+}, Cu^{2+} in 100fachem Überschuß, Co^{2+}, Ni^{2+} in 1000fachem Überschuß, ferner Zn^{2+}, Pb^{2+}, Sn^{2+}, Cd^{2+}, Al^{3+}, TeO_4^{2-}, Ag^{+} beeinträchtigen die Pd-Bestimmung nicht, dagegen stören Pt^{4+}, Pt^{2+}, Rh^{3+} (> 1:2), Cr^{3+}, J^{-} und Oxydationsmittel. — *Ausführung.* Man stellt die Palladiumlösung auf p_H 2—4 ein, versetzt in 50%igem acetonischem Medium mit 5 Tr. 0,8%iger äthanolischer Lösung von Sulfosalicylsäure, bringt mit Aceton-Wassergemisch (1:1) auf 25 ml und mißt bei 428 nm gegen eine gleich zusammengesetzte Lösung der Reagentien.

[1] Stud. Cercet. Chim. (Bucureşti) **8**, 173—178 (1960) [Rumänisch]. (Mit franz. Zus.fass.) A. Kurtenacker

---

IV. Spezielle analytische Methoden

1. Analyse von Lebensmitteln

Zur Bestimmung von Eisen in Wein benützen P. Collins und H. Diehl[1] *2,4,6-Tripyridyl-s-triazin* (TPTZ) als Reagens. Diese Verbindung gibt mit Eisen(II) einen intensiv violett gefärbten Komplex, der sich in Gegenwart von Perchlorat mit Nitrobenzol extrahieren läßt. Die molaren Extinktionskoeffizienten werden für

593 nm mit 22600 und für 595 nm mit 24100 angegeben. — *Arbeitsweise mit nasser Veraschung.* 3,00 ml Wein werden in einem 250 ml-Erlenmeyer-Kolben mit 10 ml Salpetersäure und 5 ml Perchlorsäure am Rückflußkühler erhitzt, bis Dämpfe von Perchlorsäure auftreten. Man kühlt die Lösung ab, gibt 20 ml Wasser zu und erhitzt zum Austreiben von Chlor zum Sieden. Nach erneutem Abkühlen versetzt man mit 2 ml 10%iger Lösung von Hydroxylammoniumchlorid (Entfernung von Eisen wie bei Acetatpuffer, siehe unten), 2,0 ml Acetatpuffer (siehe unten) und 5 ml 0,001 m TPTZ-Lösung (0,312 g TPTZ werden in wenigen Tropfen Salzsäure gelöst und zu 1 l mit Wasser aufgefüllt). Man stellt mit Ammoniak auf p_H 4—5 ein, überführt in einen Scheidetrichter und schüttelt 1 min mit 4 ml Nitrobenzol. Man wiederholt die Extraktion mit 2mal 2 ml Nitrobenzol, sammelt die Auszüge in einem 10 ml-Meßkolben und mißt die Extinktion in 1 cm-Küvetten bei 595 nm. Zur Aufstellung der Eichkurve benützt man eine aufsteigende Reihe von 0—15 ml einer Lösung, die 2,50 μg Eisen/ml enthält, und behandelt diese im Scheidetrichter in gleicher Weise. Man verwendet 5 ml anstatt 2 ml Acetatpuffer und gibt noch zusätzlich 1 ml 10%ige, eisenfreie $NaClO_4$-Lösung zu. — *Arbeitsweise ohne vorherige Veraschung.* Zu 3,00 ml Wein gibt man in einem 100 ml-Becherglas 2,0 ml 10%iger Hydroxylammoniumchloridlösung, 5,0 ml Äthanol, 5,0 ml Acetatpuffer und 5,0 ml 0,001 m TPTZ-Lösung. Man erhitzt die Lösung 5 min zum Sieden und überführt nach Kühlen in einen 125 ml-Scheidetrichter. Man spült mit 20 ml Äthanol und 1,0 ml 10%iger Natriumperchloratlösung nach und verfährt zur Extraktion und Messung wie oben beschrieben. — *Acetatpuffer.* 115 ml Eisessig und 164 g Natriumacetat füllt man mit Wasser zu 1 l auf. Zur Entfernung von Eisen versetzt man mit 10 ml der 10%igen Hydroxylammoniumchloridlösung, 10 ml 0,001 m TPTZ-Lösung sowie 1 g Natriumperchlorat und extrahiert die Lösung mit 25 ml Nitrobenzol.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **22**, 125—127 (1960). Univ. Ames, Iowa (USA).
L. Acker

Den Nachweis von Hybridenwein in Wein aus Vinifera-Reben hat H. Rentschler[1] auf die Beobachtung von P. Ribéreau-Gayon[2] gegründet, daß etwa 80% der von Hybridenreben stammenden Trauben die Diglucoside des Petunidins und des Malvidins enthalten, während sie in den Edeltrauben nicht nachweisbar sind. Von diesen Farbstoffen ist für den Nachweis das *Diglucosid des Malvidins* von Bedeutung, weil es beim Belichten auf Papier mit UV-Licht eine sehr intensive und charakteristische rote Fluorescenz erkennen läßt. Die Farbstoffe werden aus farbstoffarmen Weinen durch Adsorption an Aktivkohle isoliert, bei farbstoffreichen wird der Wein unmittelbar aufgetragen (50 μl in Form eines Streifens von 4 cm Länge). Als Fließmittel dient 1%ige wäßrige Ameisensäure (Papier Whatman Nr. 4, 20×24 cm, aufsteigend). Nach etwa 20 min ist die Chromatographie beendet. Man trocknet im Warmluftstrom und legt das Chromatogramm unter die UV-Lampe. Hybridenfarbstoff gibt sich hierbei durch eine ziegelrote bis rosarote Farbe zu erkennen. Die rote Fluorescenz läßt sich nach Monaten noch reproduzieren. — Von den farbstoffarmen Weinen werden 100 ml mit 0,7 g Aktivkohle vermischt und nach Aufkochen durch einen Glasfiltertiegel mit aufgeschwemmter Asbestschicht filtriert. Dann gibt man auf den Rückstand 50 ml siedendheiße 10%ige alkoholische Ameisensäurelösung. Man engt diese die Farbstoffe enthaltende Lösung im Vakuum auf 1—2 ml ein und verwendet dann das Konzentrat für die Papierchromatographie.

[1] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **50**, 533—540 (1959). Eidgen. Versuchsanst. Obst-, Wein-, Gartenbau, Wädenswil (Schweiz). — [2] C. R. Acad. Sci. (Paris) **244**, 233 (1957); Ann. Falsificat. Fraudes **49**, 381 (1956); vgl. diese Z. **156**, 449 (1957).
L. Acker

Über Erfahrungen mit der Methode von H. Rebelein[1] zum Nachweis naturreiner und gezuckerter Weine berichten K. Hennig und A. Lay[2]. Rebelein hat auf Grund reaktionskinetischer Überlegungen abgeleitet, daß bei naturreinen Weinen das Verhältnis $K = 10^6[Gl][Bu]/[A]^3$ (wo $[Gl]$, $[Bu]$ und $[A]$ die Konzentration von Glycerin, Butylenglykol und Alkohol in Gramm/Liter bedeuten), sich innerhalb bestimmter Grenzen bewegt. Die Verff. haben jetzt an einem ihnen zur Verfügung stehenden Material von 60 Weinen, deren Provenienz und Herstellung bekannt waren, das Verfahren überprüft. Insgesamt wurde bei 55% der Weine ein zutreffendes Urteil erhalten. Von den mit Sicherheit naturreinen Weinen wurden 20% als zuckerungsverdächtig beurteilt, während von den tatsächlich gezuckerten Weinen 55% richtig beurteilt wurden.

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **105**, 297, 403 (1957); vgl. diese Z. **159**, 308 (1957/58); **160**, 382 (1958). — [2] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **111**, 505—512 (1960). Inst. Biochem. Weinchem., Geisenheim/Rhg. L. Acker

Die Bestimmung des spezifischen Gewichts von Emulsionslikören von der Art der *Eierliköre* nimmt H. Thiel[1] zur Vermeidung der bekannten Schwierigkeiten so vor, daß er gleiche Gewichtsteile Wasser und Likör unter Umschwenken vermischt und im Pyknometer das Gewicht (G) der Mischung bei 20° C ermittelt. Dann ist das spezifische Gewicht $s = 0{,}99717\,G/(2W\text{-}G)$, wobei W der Wasserwert des Pyknometers ist (Wasserinhalt in Gramm bei 20° C). — Zur Alkoholbestimmung wird der Pyknometerinhalt in ein Destillierkölbchen gespült und nach Zusatz eines schaumverhütenden Mittels in das gleiche Pyknometer destilliert. Man bestimmt darin den Alkohol nach Vol-% (a). Der Gehalt des Likörs in Vol-% ergibt sich dann zu $2{,}0057 \cdot W \cdot a \cdot s/G$.

[1] Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. **56**, 104—105 (1960). Hagen. L. Acker

Zur Bestimmung der Gesamtmenge der Aminosäuren in Essigen haben sich K. G. Bergner und H. R. Petri[1] der Methode von H. W. Spier und G. Pascher[2] bedient, die darauf beruht, daß α-Aminosäuren (und daher nicht die γ-Aminobuttersäure) mit unlöslichem Kupferphosphat lösliche Komplexsalze bilden. Mit diesem Verfahren erfaßt man auch die Iminosäuren, zudem ist das Verfahren unempfindlich gegen Ammoniak; jedoch stören Oligopeptide und Komplexbildner wie Citronensäure und Glycerin in größerer Menge. Die Aminosäuren werden nach Abdampfen des Essigs mit Hilfe von Ionenaustauschern isoliert und dann über die Kupferkomplexsalze bestimmt. Da für die Berechnung ein mittlerer Gehalt an allen qualitativ nachgewiesenen Aminosäuren zugrunde gelegt wird, sind die so ermittelten Werte mit einer gewissen Unsicherheit behaftet; sie stellen nach der Auffassung der Verff. Näherungswerte dar, die allerdings den tatsächlichen Verhältnissen sehr nahe kommen sollen. Zur halbquantitativen Auswertung der einzelnen Aminosäuren wurden 5 Standardchromatogramme der betreffenden Aminosäuren mit verschiedenen Konzentrationen herangezogen. — Zur *Unterscheidung von Gärungs- und Essenzessig* benützen die Verff. die Aminosäuren. Sie halten es dabei für ausreichend, einige der Aminosäuren mit salzsäurehaltigem Aceton zu extrahieren. Die nach Abdampfen des Lösungsmittels zurückbleibenden Aminosäuren werden mittels Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) nach der Rundfilterchromatographie von H. Weihrauch[3] aufgetrennt. Zur Sichtbarmachung wird mit Ninhydrin behandelt; daneben wird durch die Isatinreaktion auch auf *Prolin* geprüft, das mit Ninhydrin schlecht hervortritt, in allen Gärungsessigen aber reichlich vertreten ist. Die einzelnen Verfahren sind im Original ausführlich beschrieben.

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **111**, 494—504 (1960). Chem. Landesuntersuchungsanstalt Stuttgart. — [2] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **296**, 147 (1954); vgl. diese Z. **148**, 306 (1955/56). — [3] Chemiker-Ztg. **80**, 415 (1956); vgl. diese Z. **156**, 287 (1957). L. Acker

Zur gaschromatographischen Untersuchung von natürlichen Fetten unbekannter Zusammensetzung gibt A. T. James[1] eine Methode an, mit deren Hilfe der Grad der Ungesättigtheit und die Kettenlänge auf einfache Weise festgestellt werden können. Chromatographiert man die Fette als Methylester an einer polaren und einer nichtpolaren Kolonne und trägt die relativen Retentionsvolumina der beiden Kolonnen — bezogen auf Methylmyristat — gegeneinander auf, so liegen alle gesätt. Verbindungen auf einer Geraden und alle ungesätt. mit 1, 2, 3 usw. Doppelbindungen auf weiteren dazu parallelen Geraden. Die Verbindungen mit gleicher Atomnummer bilden senkrecht zu den Parallelen eine etwa gerade Linie. Solch ein Diagramm kann zur Charakterisierung unbekannter Fettsäuren dienen. Die erläuterte Beziehung zwischen Struktur und chromatographischem Verhalten gilt nicht für aromatische Säuren, kompliziert verzweigte und konjugiert ungesätt. Säuren. — Verf. ermittelt die Daten für verschiedene Fettsäuren C_5—C_{22} an Apiezon L auf Celite bei 197° C und Polyäthylenglykoladipat auf Celite bei 180° C. Die verwendeten Kolonnen (1,20 m lang, 4—5 mm ⌀) haben eine Wirksamkeit von 3000—4500 theoretischen Böden. Beispiele für die beschriebene Methode sind angegeben.

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 552—561 (1959). Nat. Inst. Med. Res., Mill Hill, London (England). Margot Zimmermann

Über die Trennung von Sonnenblumenölfettsäuren mittels Harnstoffeinschlußverbindungen berichten G. Rankoff, L. Stoilov und S. Spassov[1]. Auf Grund vieler Versuche erwies sich nachstehende *Arbeitsweise* als am günstigsten: Zu 5 g Fettsäuren werden bestimmte Mengen an festem Harnstoff und 80 vol-%igem Äthanol zugegeben. Unter mechanischem Rühren wird bis zur vollständigen Auflösung erhitzt, die in Abhängigkeit von dem Verhältnis der Komponenten zueinander bei verschiedener Temperatur eintritt. Diese wird mit einer Genauigkeit von 1—2° C bestimmt. Die Abkühlung erfolgt bei einer Temperaturabnahme von 1—2° C/min unter intensivem Rühren, wobei die Harnstoff-Einschlußverbindungen auskristallisieren. Dann wird bei 20° C 1 Std ununterbrochen umgerührt. Die Kristalle werden über ein Schott-Filter abfiltriert und mit 20 ml gesätt. Harnstofflösung in 95%igem Äthanol nachgewaschen. Danach werden sie mit 1% Salzsäure enthaltendem heißem Wasser zersetzt. Hierbei trennen sich die Fettsäuren als obere Schicht ab, die durch Ätherextraktion isoliert wird. Ebenso werden auch die Fettsäuren aus dem Filtrat gewonnen. Bei beiden Fraktionen werden die Ausbeute und die Jodzahl bestimmt. Die aus dem Addukt isolierte Fraktion ist in allen Fällen hart, die aus dem Filtrat dagegen flüssig.

[1] Dokl. bolgar. Akad. Nauk **13**, 71—74 (1960). Bulgar. Akad. Wiss., Sofia.
B. Rossmann

Den Nachweis von oxydierten Stärken nehmen J. R. Fraser und D. C. Holmes[1] nach einer Modifikation des Vorgehens von T. J. Schoch und E. C. Maywald[2] vor, das von dem stärkeren Farbadsorptionsvermögen oxydierter Stärken Gebrauch macht. Man versetzt 0,5 g Stärke in einem kalibrierten 200 ml-Gefäß mit 10 ml 0,1%iger wäßriger Safraninlösung und verdünnt auf ungefähr 190 ml mit Wasser. Man läßt 1 Std unter häufigem Umrühren stehen, füllt zur Marke auf, schüttelt und zentrifugiert bis zur Klärung. 10 ml der klaren überstehenden Lösung verdünnt man mit Wasser auf 50 ml. Gleichzeitig bereitet man eine Reihe von Standardlösungen, die aus 10, 7,5, 5,0 und 2,5 ml-Anteilen einer Lösung von 10 ml 0,1%iger Safraninlösung in 200 ml Wasser durch Verdünnen auf 50 ml hergestellt wurden. Die mit der zu untersuchenden Stärke erhaltenen Farblösungen vergleicht man mit diesen Standardlösungen und ermittelt spektrophotometrisch bei 515—520 nm die Adsorption des Farbstoffes durch die Stärke. Auf diese

Weise läßt sich behandelte von unbehandelter Stärke unterscheiden. — Bei entsprechend anderen Verdünnungen und anderen Wellenlängen lassen sich auch die übrigen von Schoch und Maywald vorgeschlagenen Farbstoffe verwenden.

[1] Analyst **85**, 150—151 (1960). — [2] Analyt. Chemistry **28**, 382 (1956).

L. Acker

Die Milchfettbestimmung läßt sich nach G. Haugaard und J. D. Pettinati[1] photometrisch durchführen, da hierfür einerseits der Fettgehalt, andererseits die Größe der Fettkügelchen ausschlaggebend sind. An Hand einer mathematischen Ableitung wird die Theorie erklärt und ein Nomogramm für die praktische Durchführung aufgestellt. Zur Untersuchung ist eine Homogenisierung erforderlich, um gleich große Fettkügelchen zu erhalten. Der hierfür angewandte Druck ist bei der Benutzung des Nomogramms zu berücksichtigen. Sodann wird die Probe zur Entfernung der störenden Trübung des Caseins 5fach mit einer Lösung von 0,325% ÄDTA und 0,125% Tween 20 (Polyoxyäthylensorbitanmonolaureat) verdünnt und mit Natronlauge auf p_H 10 eingestellt. Gegen eine Milchglasscheibe wird die optische Dichte (Trübung) gemessen. Die Lichtdurchlässigkeit wird sowohl als Gesamtdurchstrahlung als auch als Paralleldurchstrahlung gemessen. Mit Hilfe dieser beiden Werte und des Homogenisierungsdruckes läßt sich der Milchfettgehalt schnell aus dem Nomogramm ablesen. Die Eichung der Milchglasscheibe geschieht mit hochfetthaltiger Milch, die mit Magermilch auf verschiedene Fettgehalte eingestellt wird. In dieser wird der Milchfettgehalt nach Roese-Gottlieb ermittelt. Der Verfahren ist auch auf andere milchfetthaltige Produkte anwendbar.

[1] J. Dairy Sci. **42**, 1255—1275 (1959). Nat. Dairy Prod. Co., Oakdale, Long Island, N. Y. (USA). B. Rossmann

Eine Fraktionierung der Milchproteine mit Hilfe eines Anionenaustauschers auf Cellulosebasis (DEAE-SF der Bio-Rad Labs., Richmond, Calif.) haben M. Yaguchi, W. G. Jennings und N. P. Tarassuk[1] nach dem Verfahren von Peterson und Sober[2] vorgenommen. Nach Entrahmung wurde die frisch gemolkene Milch abgekühlt und dann 24 Std gegen 0,005 m Natriumphosphatpuffer von p_H 7 dialysiert, bei häufiger Erneuerung des Puffers. 25 ml dieser dialysierten Milch wurden auf die Säule gegeben. Die Fraktionierung erfolgte durch Gradientenelution (Puffer I: 0,005 m Natriumphosphat, p_H 7; II: ansteigend auf 0,02 m Natriumphosphat, p_H 6,0; III: ansteigend auf 0,05 m Natriumphosphat; IV: ansteigend auf 0,1 m NaCl-0,05 m NaH_2PO_4; V: ansteigend auf 0,5 m NaCl-0,1 m NaH_2PO_4). Die Durchflußgeschwindigkeit betrug 50 ml/Std. Die Auswertung erfolgte in 5 ml-Fraktionen durch spektrophotometrische Messung bei 280 nm.

[1] J. Dairy Sci. **42**, 1395—1396 (1959). Univ. Davis, Calif. (USA). — [2] Peterson, E. A., u. H. A. Sober: J. Amer. chem. Soc. **78**, 751 (1956). — Sober, H. A., u. E. A. Peterson: J. Amer. chem. Soc. **76**, 1711 (1954). L. Acker

Eine direkte Lactosebestimmung in Milch und Serum beschreiben J. R. Marier und M. Boulet[1]. Man pipettiert 2,0 ml der zu untersuchenden Lösung, die 10—75 μg Lactose enthalten soll, in eine Colorimeter-Küvette, setzt 0,10 ml Phenolreagens (20 ml Wasser + 80 g Phenol, bei 50° C lösen) zu und läßt 6,0 ml konz. Schwefelsäure vorsichtig an der Wandung entlang zufließen. Man rührt um und mißt die Extinktion nach 10 min bei 490 nm gegen Wasser. Die Färbung ist höchstens 1 Std stabil. Die Werte werden einer mit Lactosemonohydrat aufgestellten Eichkurve entnommen.

[1] J. Dairy Sci. **42**, 1390—1391 (1959). Nat. Res. Council, Ottawa (Canada).

Ursula Baumann

Zum Nachweis der Antibiotica in Milch (aus der Behandlung von Eutererkrankungen stammend) geht W. Wodsak[1] im wesentlichen nach der Methode von Neal und Calbert[2] vor, die die verminderte Reduktaseaktivität mit Hilfe von Redoxindicatoren messen. Die Milch wird zunächst pasteurisiert, wobei man je 9 ml der zu prüfenden Milch 5 min im Wasserbad auf 80° C erhitzt. Nach Abkühlen versetzt man mit je 1 ml von Joghurtfrühkulturen, verschließt mit sterilen Gummistopfen und mischt durch 2—3maliges Umdrehen, bebrütet 2 Std bei 37° C und setzt dann 0,3 ml einer 4%igen wäßrigen Lösung von Triphenyltetrazoliumchlorid zu. Man bebrütet nochmals 30 min bei 37° C. Bei einwandfreier Milch zeigt sich dabei eine mehr oder weniger starke rosarote Färbung, bei Anwesenheit von Antibiotica bleibt die Farbe unverändert. Die Nachweisgrenzen liegen bei 0,04 μg Penicillin, 0,2 μg Aureomycin bzw. Terramycin sowie 4,0 μg Streptomycin/ml. —Auf die Möglichkeit einer Unterscheidung zwischen Penicillin und Hemmstoffen von der Art der quartären Ammoniumverbindungen wird hingewiesen. Hierbei wird eine Probe auch mit Penicillinase behandelt und als Testorganismus Hefe verwendet, die gegen derartige Ammoniumverbindungen besonders empfindlich ist.

[1] Nahrung **3**, 729—736 (1959). Chem. Lebensmittelunters.-Anstalt, Hyg. Inst., Hamburg. — [2] J. Dairy Sci. **38**, 629 (1955). L. Acker

Zur quantitativen Bestimmung von Carraghenin in Milcherzeugnissen machen P. M. T. Hansen und R. McL. Whitney[1] von der Tatsache Gebrauch, daß es sich dabei um einen Schwefelsäureester handelt. Nach Dialyse der Milch oder des in Wasser gelösten Milcherzeugnisses wird mit Salzsäure in der Hitze hydrolysiert, mit Aktivkohle geklärt und die abgespaltene Schwefelsäure als Bariumsulfat bestimmt. Die Einzelheiten des Verfahrens sowie die ausführliche Diskussion der einzelnen Schritte und Beleganalysen sind dem Original zu entnehmen.

[1] J. Dairy Sci. **43**, 175—186 (1960). Univ. Urbana, Ill. (USA). L. Acker

Zur Bestimmung von Selen in Milchpulver verwenden J. Pien, J. Desirant, F. Orsini und P. Avril[1] eine Modifikation der von K. L. Cheng[2] angegebenen *o-Diaminobenzidin-Methode*. Zugesetztes Selen kann mit einem Fehler von $< 4\%$ wiedergefunden werden. — *Arbeitsweise.* 5 g Magermilchpulver werden in Gegenwart von 10 ml 5%iger salpetersaurer Quecksilberoxydlösung mit einem Gemisch aus 50 ml Schwefelsäure und 100 ml Salpetersäure umgesetzt und 30 min lang gekocht. Dann wird mäßig weitererhitzt, bis die Masse zuerst klar und dann bräunlich wird; nach dem Abkühlen fügt man weitere 10 ml Salpetersäure zu und wiederholt das Erhitzen noch 2mal (die Masse darf nicht schwarz werden!). Man entfernt die überschüssige Salpetersäure, kühlt ab, gibt 50 ml Wasser und 30 ml eines Gemisches aus 10 ml Brom und 990 ml 40%iger Bromwasserstoffsäure hinzu und destilliert bis 130° C in einen gekühlten Erlenmeyer-Kolben als Vorlage, in dem sich 5 ml Bromwasserstoffsäure befinden. Darauf leitet man Schwefeldioxyd durch das Destillat und zwar 30 sec über den Zeitpunkt der vollständigen Bromentfärbung hinaus. Nach Zugabe von 1 ml 10%iger Hydroxylaminchlorhydratlösung hält man 30 min im Sieden, kühlt, sammelt das Selen auf einer kleinen Glasfilterfritte, wäscht es aus und löst mit 2mal je 1 ml Bromwasserstoff/Bromgemisch (5 ml Bromwasserstoffsäure + 10 ml Bromwasser + Wasser bis 100 ml). Man bindet nun das überschüssige Brom im Filtrat durch 5 min Erhitzen mit 3 Tr. 5%igem Phenol, stellt mit Ameisensäure p_H 2,5 ein und verfährt weiter, wie von K. L. Cheng[2] beschrieben. Dieses Verfahren der organischen Selenbestimmung ist viel empfindlicher als die Titration mit Hyposulfit und Jod. — Verff. haben außerdem die von K. L. Cheng[2] bzw. T. Danzuka und K. Ueno[3] angegebenen Verfahren

zur Selenbestimmung in Stahl bzw. Schwefelsäure nachgeprüft und dabei höhere Fehler gefunden, als von diesen Autoren angegeben wurde.

[1] Ann. Falsificat. Exp. chim. **53**, 83—91 (1960). — [2] Cheng, K. L.: Analyt. Chemistry **28**, 1738 (1956); Chemist-Analyst **45**, 67 (1956); vgl. diese Z. **157**, 117, 128 (1957). — [3] Analyt. Chemistry **30**, 1370 (1958); vgl. diese Z. **168**, 157 (1959).

Liselott Johannsen

Einen Vergleich zwischen einigen Methoden zur Ascorbinsäurebestimmung hat J. W. Haken[1] durchgeführt. Die Ergebnisse aus den Bestimmungen mit 2,6-Dichlorphenolindophenol nach Tillmans und mit Jod, letztere ausgeführt einmal als automatische potentiometrische Titration und einmal mit Stärke als Indicator, wurden untereinander und zugleich mit den Resultaten aus 2 weiteren Methoden, der papierchromatographischen nach Bergeret[2] und der Methode nach H. Mohr[3], verglichen, wobei die Ascorbinsäure übergeführt wird in das 2-Nitrophenylhydrazid der Oxalsäure. Für die Bestimmungen wurden *Kartoffelfruchtwasser*, *Spinat* und einige von Natur aus ascorbinsäurefreie, aber mit Ascorbinsäure angereicherte Erzeugnisse (*Rotwein*, *Kakao*, *gebrannter Zucker* usw.) herangezogen. Die Titrationsmethoden (nach Tillmans und jodometrisch) ergaben vergleichbare Werte, wobei die potentiometrische Variante die geringsten Streuungen zeigte. Die papierchromatographische Methode führt nur in den Händen Geübter zu befriedigenden Resultaten. Dagegen ist die Methode nach Mohr in allen Fällen anwendbar, auch dort, wo die andern Methoden versagen. Allerdings muß man dann in Kauf nehmen, daß ein Analytiker am Tage höchstens 4 Doppelbestimmungen ausführen kann.

[1] Chem. Weekbl. **56**, 205—206 (1960) [Holländisch]. Landbouwhogeschool (Holland). — [2] Indian Alim. Agric. **75**, 299 (1958). — [3] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **47**, 20 (1956); vgl. diese Z. **155**, 211 (1957). L. Acker

Über die biologische Bestimmung von Histamin in Lebensmitteln berichtet M. Henry[1]. Methode der Wahl ist die bekannte Auswertung am Meerschweinchenileum im sauerstoffdurchperlten *Tyrode*-Bad mit Atropinzusatz und zur exakten Bestimmung noch der Kreuzversuch mit einem Antihistaminicum. Zur Anwendung gelangen die üblichen salz- oder trichloressigsauren Extrakte der fein zerkleinerten Untersuchungsproben, bei denen nach teils kurzer (3—5 min Kochen), teils langer Hydrolyse (90 min Kochen oder 48 Std bei + 4° C) das Gesamthistamin nach Einstellen von p_H 7,2 ermittelt wird. Wie weit das Histamin durch Mikroorganismen gebildet wurde, läßt sich nicht entscheiden. Bei sehr natriumchloridreichen Proben muß man eine papierchromatographische Trennung und Elution von Histamin vor der Bestimmung einschieben, da anderenfalls das *Tyrode*-Bad eine zu hohe Salzkonzentration aufweist.

[1] Ann. Falsificat. Exp. chim. **53**, 24—33 (1960). Soc. OLIDA, Levallois-Perret (Frankreich). E. Müller, Würzburg

Nachweis von Metanilgelb in Hülsenfrüchten. S. N. Mitra und B. R. Roy[1] haben ihr früher[2] beschriebenes Nachweisverfahren dadurch verbessert, daß sie den Farbstoff nicht mehr mit Wasser, sondern mit Alkohol extrahieren (beim Extrahieren mit Wasser verursachen anwesende große Stärkemengen Störungen). — *Ausführung.* Die in Stücke zerkleinerte, aber nicht gepulverte Probe (25—50 g) wird mit 100 bis 150 ml 80%igem Alkohol auf dem kochenden Wasserbad kräftig geschüttelt und dann durch Dekantation filtriert. Die Behandlung wird noch 1—2mal wiederholt, d. h. so oft, bis der Extrakt höchstens noch schwach gelblich gefärbt ist. Die vereinigten Extrakte werden bis auf wenige Tropfen auf dem Wasserbad eingedampft. 1 Tr. dient für die folgende Chromatographie, der Rest wird mit etwa 100 ml Wasser aufgenommen und mit Salzsäure schwach angesäuert. Mit der Lösung wird

Wolle in bekannter Art angefärbt, und darauf werden die üblichen Tüpfelproben zur Identifizierung des Farbstoffs ausgeführt. Zur papierchromatographischen Identifizierung bringt man den oben erhaltenen Tropfen nahe der Mitte auf ein 18,5 cm-Rundfilter (Whatman Nr. 1). Auf die gegenüberliegende Seite kommt 1 Tr. einer alkoholischen Lösung von Metanilgelb. Das Papier wird horizontal auf eine Petri-Schale (10 cm ⌀) gelegt, die die mobile Phase Phenol-Wasser (80:20) enthält. In diese taucht ein Papierdocht, der durch die Mitte des Papierfilters geht. Das Ganze wird in einer geschlossenen Kammer (bell-jar) untergebracht und es wird 2—3 Std chromatographiert. Zur Identifizierung bringt man auf die getrockneten Flecken 1—2 Tr. konz. Salzsäure. Violettfärbung beweist die Anwesenheit von Metanilgelb. Der Farbstoff wandert mit der Lösungsmittelfront.

[1] Sci. and Culture **25**, 539—540 (1960). Central Food La bor., Calcutta-16 (Indien). — Mitra, S. N., und S. C. Roy: Curr. Sci **26**, 89 (1957). A. Kurtenacker

4. Analyse von biologischem Material

Literatur. E. Broda, *Radioaktive Isotope in der Biochemie.* (Band III der *Einzeldarstellungen aus dem Gesamtgebiet der Biochemie*, Neue Folge, herausgegeben von O. Hoffmann-Ostenhof, Wien.) VIII, 326 Seiten mit 30 Abbildungen und 13 Tabellen. Verlag Franz Deuticke, Wien 1958. Preis Gzln. 49,— DM.

Es gibt gerade in der Biochemie viele Probleme, deren Lösung erst durch die Anwendung radioaktiver Markierungsmethoden möglich geworden ist. Andere Untersuchungen werden wesentlich erleichtert. Das Buch soll den Leser in die Methodik der biochemischen Arbeit mit radioaktiven Isotopen einführen. Dabei werden die elementaren Grundtatsachen der Radioaktivität vorausgesetzt. Die glücklich gewählten instruktiven Beispiele für jede Art der vorkommenden Untersuchung sind allen Gebieten der Biochemie entnommen. Während die Grenze zwischen Biochemie und Physiologie nicht immer leicht zu ziehen ist (Kapitel über Hauptprobleme des Intermediärstoffwechsels!) werden spezielle medizinische Fragen nicht behandelt. Besonders wertvoll sind die überaus zahlreichen Literaturzitate (bis 1957) sowie Hinweise auf Darstellungen spezieller Probleme und grundlegender theoretischer Tatsachen. Man erkennt aus der überlegenen Darstellung aller dieser Probleme die Erfahrung und den reichen Wissensschatz des Autors. Das Buch wird dem Praktiker gute Dienste leisten. Margot Zimmermann

Zur Kenntnis der Beziehung zwischen Dosis und Effekt in der Röntgenstrahlenbiologie und Therapie benutzt E. Krokowski[1] die Röntgenabsorptionsanalyse. Als Maß für den Bestrahlungseffekt dient die Fluorescenzanregung von Natriumsalicylat. Die mit Hilfe eines Multipliers gemessene Fluorescenzintensität erreicht im Gebiet der großen Wellenlängen ($\lambda > 0{,}4$ Å), wo die Ordnungszahl des durchstrahlten Materials für die Energieabsorption maßgebend ist, genau die Höhe der Werte aus der berechneten effektiven Ordnungszahl (7,6 für Natriumsalicylat). Das bedeutet, daß an der betrachteten Wirkung der Röntgenstrahlen die gesamte Molekel Anteil hat. Auch bei Einführung eines *Chloratoms* in die Molekel fällt die Wirkungskurve mit der effektiven Ordnungszahl (10,69) bei großen Wellenlängen zusammen. Die Energieabsorption ist auch hier wieder eine Wirkung der gesamten Molekel. Für *Medikamente* und *Hormone*, deren Wirksamkeit an einzelne Atome bzw. Atomgruppen gebunden ist, sind Abweichungen zu erwarten. Die Absorptionsanalyse wird demnach den Zusammenhang zwischen applizierter und absorbierter Dosis einerseits und der Strahlenwirkung andererseits mit aufklären können.

[1] Naturwissenschaften **47**, 35—36 (1960). Strahleninst. d. Freien Univ. Berlin.
H. Specker

Zum nassen Aufschluß von stark fetthaltigem, organischem Material, wie *Knochen und Knochenmark*, eignet sich nach G. F. Smith und H. Diehl[1] Erhitzen mit 100%iger Schwefelsäure und anschließende Oxydation mit 73,6%iger Perchlorsäure bei Gegenwart von Vanadium als Katalysator. Es wurde, wie schon bei früheren Untersuchungen[2], die Apparatur nach P. O. Bethge[3] verwendet. Bereitung der Reagentien sowie Reaktionsbeispiele werden mitgeteilt.

[1] Talanta (London) **3**, 41—46 (1959). Univ. Urbana, Ill., und State Coll., Ames, Io. (USA). — [2] Smith, G. F.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 175 (1957); vgl. diese Z. **163**, 201 (1958). — [3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **10**, 317 (1954); vgl. diese Z. **145**, 305 (1955). H. Garschagen

Für die Kaliumbestimmung in Blut, Organen, Geweben, Milch, Brot usw. empfiehlt S. I. Višnjakov[1] das folgende modifizierte colorimetrische Verfahren: Man mischt 1 ml Rohblut in einem Zentrifugierrohr mit verengtem Endteil mit 2 ml Wasser und tropfenweise mit 2 ml Fällungsreagens (Lösung von 25 g Kobaltnitrat + 12,5 g Eisessig in 50 ml Wasser, gemischt mit 210 ml einer Lösung von 120 g $NaNO_2$ in 180 ml Wasser, durch einen Luftstrom von Stickstoffoxyden befreit). Nach 45 min langem Stehen unter gelegentlichem Durchmischen wird 15 min mit 1500 U/min zentrifugiert und die überstehende Lösung mit einer Pipette möglichst vollständig entfernt. Dann wäscht man den Niederschlag mit 5 ml Wasser, zentrifugiert, entfernt die überstehende Lösung und wiederholt dies bis zur Farblosigkeit des Überstandes (gewöhnlich 3mal). Man löst den Niederschlag hierauf in 5 ml 0,2 n Natronlauge in der Wärme, gibt 5 ml Wasser zur Lösung, filtriert, wäscht mit bidestilliertem Wasser und füllt im 50 ml-Meßkolben zur Marke auf. 10 ml dieser Lösung werden im 100 ml-Meßkolben mit 60—70 ml Wasser, 2 ml Sulfanilsäurelösung (0,5 g Sulfanilsäure in 100 ml 30%iger Essigsäure) und 1 ml Naphthylaminlösung (0,5 g α- oder β-Napthylamin in 100 ml 30%iger Essigsäure) versetzt, mit Wasser zur Marke aufgefüllt und innerhalb 10 min unter Verwendung von Grünfilter photometriert. Die Eichkurve wird mit Standard-Kaliumsulfatlösung (1 ml $\cong$ 0,1 mg K) unter den gleichen Bedingungen aufgestellt. Der Bestimmungsfehler liegt bei etwa $\pm$ 6%. — Zur Kaliumbestimmung in Organen, Geweben usw. mineralisiert man die Probe zunächst, löst dann in 0,01 n Schwefelsäure und behandelt weiter wie angegeben.

[1] Lab. Delo **6**, Nr. 2, 17—20 (1960) [Russisch]. Wiss. Veterinärstation Kursk (UdSSR). O. Gautsch

Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium und Phosphor in 10 ml-Proben von Harn, Milch oder Blut haben K. Scharrer und K. Mengel[1] *flammenphotometrisch* (bzw. den Phosphatgehalt *photometrisch* nach der *Molybdat-Vanadat-Methode*[2]) bestimmen können. Man trennt zunächst störende Anionen, das Natrium und einen Teil des Kaliums mit einer Kationenaustauschersäule (Lewatit S 100) ab und verfährt sonst wie bei der früher von den Verff. für die Pflanzenanalyse beschriebenen Methode[3].

[1] Z. Tierphysiol. Tierernähr. **15**, 1—17 (1960). Univ. Gießen. — [2] Gericke, S., u. B. Kurmies: diese Z. **137**, 15 (1952/53). — [3] Scharrer, K., u. K. Mengel: Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde **77**, (122), 18 (1957); Z. Tierernähr. Futtermittelkunde **13**, 142 (1958); vgl. diese Z. **162**, 77 (1958); **167**, 441 (1959).
Klaus Brodersen

Über eine Methode zur Bestimmung von Kupfer im Serum berichtet E. Risse[1]. Es handelt sich um eine Modifikation älterer Methoden[2,3], die darin besteht, daß man ohne Extraktion des Farbstoffes mit organischen Lösungsmitteln auskommt, was zudem die Genauigkeit erhöht. — *Ausführung.* 1,0 ml Serum versetzt man mit

2,5 ml Wasser, 0,5 ml 5 n Salzsäure, 1,0 ml 20%iger Trichloressigsäure und filtriert nach 5 min durch kupferfreies Filter. Zu 2,5 ml des Filtrates gibt man 0,1 ml 4%ige Natriumpyrophosphatlösung, 0,3 ml konz. Ammoniaklösung und 0,1 ml 1%ige Natriumdiäthyldithiocarbaminatlösung. Gegen einen Blindansatz mißt man die Extinktion bei 450 nm. Dann ist: (Extinktion der Probe —Extinktion des Blindansatzes) · 3570 = Mikrogramm Cu/100 ml Serum. — Wenn keine kupferfreien Filter zur Verfügung stehen, kann man nach der Trichloressigsäurezugabe 2 min im siedenden Wasserbad erhitzen und zentrifugieren. 2,5 ml Überstand versetzt man dann mit 0,1 ml der Pyrophosphatlösung und 0,3 ml konz. Ammoniaklösung, mißt die Extinktion (E_1), gibt 0,1 ml der Diäthyldithiocarbaminatlösung hinzu und mißt wieder (E_2) gegen einen Blindansatz (E_3); hier ist $[E_2 - (0{,}97 \cdot E_1) - E_3] \cdot 3570$ = Mikrogramm Cu/100 ml Serum.

[1] Ärztl. Lab. **5**, 355—358 (1959). Lab. Med. chem. serol. Unters., Koblenz. — [2] Robinson, J. C.: J. biol. Chemistry **179**, 1103 (1949); vgl. diese Z. **131**, 244 (1950). — [3] Tompsett, S. L.: Biochemic. J. **28**, 1544 (1934). E. Müller, Würzburg

Calcium im Blutserum. *Eine Mikromethode für die komplexometrische Schnellbestimmung mit Calcon als Indicator* entwickelt J. Boxer[1]. — *Arbeitsvorschrift.* In 3 Reagensgläser werden je 2 ml Puffer-Indicator-Mischung (50 ml 0,3 n Natronlauge mit 5 Tr. 0.5%iger methanolischer Calconlösung versetzt und mit 0,01 m ÄDTA-Lösung auf eine rein blaue Farbe eingestellt; vor Gebrauch frisch zu bereiten) gegeben. In 2 der Reagensgläser kommen je 0,1 ml Serum, in das 3. Reagensglas kommt 0,1 ml Calcium-Standardlösung (0,5005 g Calciumcarbonat in wenig 10 n Salzsäure gelöst und auf 1 l verdünnt. 20 ml dieser Lösung werden mit 0,02 ml gesätt. Magnesiumchloridlösung versetzt und mit doppelt dest. Wasser auf 25 ml verdünnt. 0,1 ml = 16 mg-% Ca). Nach 5 min Stehen werden die Proben 2 min in einem Wasserbad von 60° C erhitzt. Darauf werden sie mit 0,01 m ÄDTA-Lösung unter dauerndem Schütteln titriert. Die eine Serumprobe wird bis zu einer Farbe titriert, die die übertitrierte andere Serumprobe zeigt. Die calciumhaltige Probe wird bis zu einer Blaufärbung titriert, die eine Mischung aus 2 ml der Puffer-Indicator-Mischung und 2 ml 0,01 m ÄDTA-Lösung annimmt.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **5**, 82—83 (1960). Government Hosp. „Rambam", Haifa (Israel). R. Ellmer

Zur Bestimmung von Calcium in 0,2—2 ml Blutserum haben H. C. McAllister jr. und C. L. Yarbro[1] die *ÄGTA-Titration* [ÄGTA = Äthylenglykol-bis-(β-aminoäthyläther)-N-N′-tetraessigsäure] von C. L. Yarbro und R. L. Golby[2] zur Calciumbestimmung in Urin mit geringfügiger Modifizierung verwenden können. Man benötigt nur 3—5 min Zeit für eine Calciumbestimmung und kann auf ± 4% genaue Ergebnisse erhalten. — *Ausführung für 1—2 ml Serum.* Zur Probe im 30 ml-Becherglas fügt man 2 ml 0,7 m Kaliumcyanidlösung, 2 ml 2 m Natronlauge und 1,00 ml 0,01 m ÄGTA-Lösung. Man verdünnt auf 15 ml, setzt 4—6 Tr. einer Lösung von 150 mg Calcon-Indicator[3] in 100 ml Methanol zu und titriert mit 0,1000 m Calciumchloridlösung zurück (Farbänderung Blau nach Rosa). — *Ausführung bei 0,2 ml Serum.* Man verfährt wie oben, jedoch mit folgenden Mengen: 0,5 ml 0,7 m KCN-Lösung, 2 ml 2 m Natronlauge, 1 ml 0,00200 m ÄGTA-Lösung und 0,025 m $CaCl_2$-Lösung.

[1] Clin. Chemistry **6**, 52—56 (1960). Univ., Chapel Hill, N.C. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **30**, 504 (1958); vgl. diese Z. **165**, 71 (1959). — [3] Hildebrand, G. P., u. C. N. Reilley: Analyt. Chemistry **29**, 258 (1957); vgl. diese Z. **158**, 285 (1957).

Klaus Brodersen

Über die flammenphotometrische Calcium-, Kalium- und Natriumbestimmung in Harn, bei der zuvor unter Umständen kristalline Bestandteile durch Erhitzen oder durch Zugabe von etwas Salzsäure gelöst werden, berichtet H. Bünte[1]. Flockige Eiweißniederschläge und celluläre Bestandteile werden abzentrifugiert, das Calcium wird als Oxalat gefällt und abgetrennt. Das Calciumoxalat wird mit einigen Tropfen konz. Salzsäure gelöst und in entsprechender Verdünnung flammenphotometrisch bestimmt. Natrium und Kalium werden nach Abtrennung des Calcium gemeinsam analysiert, wobei bei dem verwendeten Zeiss-Filterphotometer die Meßwerte wegen der gegenseitigen Störung der Linien korrigiert werden müssen.

[1] Ärztl. Lab. **5**, 345—354 (1959). Chirurgische Universitätsklinik, Erlangen.
F. Rosendahl

Zur Bestimmung kleiner Mengen von Radiostrontium im Harn haben V. Zbořil, I. Šebestian, T. Trnovec und K. Ďurček[1] das von J. Kooj[2] für die Untersuchung von Wasser angegebene Verfahren etwas abgeändert. — *Ausführung.* 1500 ml der Harnprobe werden mit 20 mg inaktivem Ba (als $BaCl_2$) und 30 mg inaktivem Sr (als Acetat) als Träger versetzt. Dann werden die Carbonate der Erdalkalien und die Hydroxyde von Fe^{III} und Al mit 15 ml gesätt. Na_2CO_3-Lösung + 10 ml konz. Ammoniak gefällt. Am nächsten Tag wird der Niederschlag abzentrifugiert, in der eben hinreichenden Menge 65%iger Salpetersäure gelöst, mit Wasser auf 4 ml verdünnt und unter Rühren mit 6 ml rauchender Salpetersäure versetzt. Nach dem Abkühlen zentrifugiert man den Niederschlag der Nitrate von Ba und Sr ab, löst in 4 ml Wasser und wiederholt das Fällen mit rauchender Salpetersäure noch 2—3mal. Den nach der letzten Fällung erhaltenen Niederschlag löst man in 10 ml Wasser, fügt 1 ml 2%ige $FeCl_3$-Lösung + 1 ml konz. Ammoniak zu, zentrifugiert und neutralisiert die überstehende Lösung mit konz. Salzsäure gegen Phenolphthalein. Durch Zugabe von 1 ml 6 m Essigsäure + 2 ml 6 m Ammoniumacetat bringt man auf p_H 4,6, fällt mit 1 ml 5%iger Na_2CrO_4-Lösung das Ba als $BaCrO_4$ und entfernt den Niederschlag durch Zentrifugieren. Aus der verbliebenen Lösung wird mit 3 ml 20%iger Natronlauge und 2 ml gesätt. Na_2CO_3-Lösung $SrCO_3$ gefällt und zentrifugiert. Man reinigt das Carbonat durch Auflösen in der Mindestmenge konz. Salzsäure und wiederholtes Fällen, wäscht 3mal mit Wasser aus, bringt in Form einer Wassersuspension auf gewogene Aluminiumplatten, dampft dort zu Trockne ein, wägt und mißt die Aktivität.

[1] Chem. Zvesti **14**, 91—94 (1960) [Slovakisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Inst. f. Arbeitshygiene und Berufskrankheiten, Bratislava (ČSR). — [2] Analyt. Chemistry **30**, 532 (1958); vgl. diese Z. **167**, 62 (1959). M. Hřivnáč

Neue Methoden für die Bestimmung von Organo-Quecksilber-Antiseptica in biologischem Material schlagen S. Hara, N. Okamoto, G. Matsumura und D. Mizuno[1] vor. *Chemische Bestimmung.* Man versetzt Tetrachlorkohlenstoff-Auszüge des Analysenmateriales mit Lösungen von Dithizon in CCl_4 (13 µg/ml), ermittelt den Abfall der Extinktion der Mischungen bei 620 nm und vergleicht mit Eichkurven, die unter Einsatz bekannter Mengen der Antiseptica nach gleichem Verfahren aufgestellt wurden. Die *mikrobiologische Bestimmung* erfolgt durch Ermittlung der Wachstumshemmung von Staphylococcus aureus 209 P nach der Zylindermethode. Gegebenenfalls im Untersuchungsmaterial vorhandenes Formaldehyd oder Phenol stören hierbei nicht (Kurven und Diagramme im Original).

[1] J. pharmac. Soc. Japan **79**, 1502—1505 (1959). [Japanisch] (Nach engl. Zus.-fass. ref.) Nat. Inst. Health, Tokyo (Japan). K. Söllner

Zur Bestimmung von Kohlenstoff-14, Tritium und Schwefel-35 in Blut oder Gewebe verwendet R. J. Herberg[1] die *Flüssigkeits-Scintillations-Zählung* mit gutem Erfolg. Der Verf. benutzt zur besseren Auflösung der Proben bekannte

Lösungsmittelgemische[2,3] oder ein zusätzlich mit Kalilauge versetztes Gemisch von F. E. KINARD[4]. Zur Entfärbung der Lösungen setzt der Verf. Wasserstoffperoxyd zu und vermeidet so Lichtverluste bei der Zählung der Impulse. Das Original enthält ausführliche Arbeitsvorschriften.

[1] Analyt. Chemistry **32**, 42—46 (1960). Lilly Res. Labs., Indianapolis, Ind. (USA). — [2] PASSMANN, J. M., N. S. RADIN u. J. A. D. COOPER: Analyt. Chemistry **28**, 484 (1956); vgl. diese Z. **154**, 278 (1957). — [3] VAUGHAN, M., D. STEINBERG u. J. LOGAN: Science **126**, 446 (1957). — [4] Rev. sci. Instr. **28**, 293 (1957).

KLAUS BRODERSEN

Für die Bestimmung von Spuren von Cyaniden im Fischgewebe (zum Nachweis einer *Vergiftung von Flußfischen durch Cyanide in den Abwässern*) empfiehlt K. MARDSEN[1], die Kiemenfasern heranzuziehen. Zur Isolierung benützt der Verf. nicht das Übertreiben der Blausäure mit Wasserdampf, da dabei trübe Destillate erhalten werden, sondern bedient sich hierzu der Mikrodiffusionstechnik von E. J. CONWAY[2]. Das isolierte Cyanid wird mit 1%iger Chloramin T-Lösung behandelt und dann mit Pyridin-Pyrazolon-Reagens versetzt (0,025 g Bispyrazolon werden in 25 ml Pyridin gelöst. Man vermischt mit 125 ml einer gesättigten wäßrigen Lösung von 1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolon). Die Extinktion wird bei 630 nm gemessen.

[1] Analyst **84**, 746—747 (1959). Freshwater Fisheries Lab., Pitlockry, Perthshire (England). — [2] Microdiffusion Analysis and Volumetric Error, Crosby Lockwood & Son Ldt., London 1939.

L. ACKER

Zur Carbonatbestimmung in biologischen Metallcarbonaten benutzen R. F. SHARP, J. S. ELLIOT und L. LEWIS[1] folgendes Prinzip: Die gut pulverisierte Probe wird in einer ÄDTA-Lösung vom p_H-Wert ~ 8,0 unter Komplexbildung gelöst. Nach Überschichten mit Mineralöl als Schutzflüssigkeit wird ein aliquoter Teil der Lösung in die Reaktionskammer einer van-Slyke-Neill-Apparatur übergeführt und durch Zusatz von Salzsäure CO_2 in Freiheit gesetzt, welches manometrisch durch Absorption in Natronlauge bestimmt wird.

[1] Clin. Chemistry **5**, 488—491 (1959). Fairmont Hosp., San Leandro, Calif. u. Univ. School of Med., San Francisco, Calif. (USA).

H. GARSCHAGEN

Über die Beeinflussung der photometrischen Bestimmung von Phosphat im Harn durch darin enthaltene reduzierend wirkende Stoffe, führt K. SCHRIEVER[1] Versuche durch. Im allgemeinen ist die Reduktion der Phosphormolybdänsäure durch den Harn selbst gering. Sie führt nur zur Bildung von Molybdänblau I und stört daher nicht. Unter pathologischen Bedingungen können jedoch stärker reduzierende Substanzen vorliegen, die zur Bildung von intensiver gefärbtem Molybdänblau II führen. In diesen Fällen müssen die reduzierenden Substanzen mit Wasserstoffperoxyd zerstört werden. Dazu werden 10 ml Harn mit 1 ml 25%iger Schwefelsäure und 1 ml 30%igem Wasserstoffperoxyd etwa 10 min gekocht und mit Natronlauge auf p_H 6—7 gebracht. Dabei werden allerdings auch organische Phosphorverbindungen oxydiert, so daß der Gesamtphosphorgehalt gemessen wird. Nach dem Verdünnen auf 200 ml wird für die photometrische Bestimmung nach K. SCHRIEVER, E. BAMANN und R. TOUSSAINT[2] 1 ml verwendet. Sehr eiweißhaltige Harne müssen vorher mit Trichloressigsäure behandelt werden.

[1] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **292**, 555—557 (1959). Univ. München. — [2] Dtsch. Apotheker-Ztg. **97**, 889 (1957); vgl. diese Z. **164**, 262 (1958).

G. DENK

Die Bestimmung kleiner Mengen Fluorid in Körperflüssigkeiten führt H. W. LINDE[1] durch, indem er die Hemmung der enzymatischen Hydrolyse von Äthylbutyrat durch Fluorionen mißt. Die Empfindlichkeit der Methode liegt bei 0,1 µg/ml

für Blut und Urin, bei 0,1 μg/100 ml für Wasser. Die Fehlergrenze schwankt zwischen 0,1 und 0,2 μg. — *Arbeitsweise.* Für eine Doppelbestimmung setzt man fünf 250 ml-Kölbchen an. Zwei enthalten 100 ml Wasser und 1 ml der zu untersuchenden Probe, die drei anderen 1,0, 5,0 und 10,0 ml einer Fluoridlösung (siehe unten), die mit Wasser auf 100 ml ergänzt werden. Man gibt in jedes Kölbchen 0,10 ml Äthyl-n-butyrat, verschließt mit Glasstopfen und setzt 4 min später 1 ml Leberlipase (siehe unten) zu. Man schüttelt um und inkubiert 5 Std bei $25 \pm 0{,}5°$ C. Die Reaktion wird durch Zusatz von 10 ml 95%igem Alkohol gestoppt und die Lösung potentiometrisch mit 0,05 n Alkali bis p_H 7,7 titriert. Die Acidität der Reagentien wird in einer Blindprobe ermittelt, und die Ansätze werden, wenn nötig, vor der Inkubation neutralisiert. Die Menge der gebildeten Säure wird nach der Formel: % Hydrolyse $= (A - B)\,100/(C - D)$ errechnet, wobei A und B die Säuremengen in der Blindprobe nach bzw. vor der Hydrolyse, C und D die Säuremengen in der Testlösung nach bzw. vor der Hydrolyse sind. Die Menge der gebildeten Säure ist dem log der Fluoridionenkonzentration umgekehrt proportional. — *Fluoridlösung.* Man löst 0,221 g Natriumfluorid in 1000 ml Wasser und verdünnt 5,0 ml dieser Vorratslösung vor Gebrauch zu 1000 ml. 1 ml enthält dann 0,5 μg Fluorid. — *Lipaselösung.* 50 g Rinderleber werden mit 200 ml Wasser 5 min homogenisiert, in einen 500 ml-Kolben filtriert, mit 5 ml Toluol überschichtet und auf 500 ml verdünnt. Man inkubiert das Gemisch 24 Std bei 35—40° C und bewahrt es im Kühlschrank auf. Vor dem Gebrauch filtriert man die benötigte Menge durch ein Whatman-Filter Nr. 40. Die unfiltrierte Suspension ist etwa 1 Monat haltbar.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 2092—2094 (1959). Div. of Air Reduction Co., Inc., Murray Hill. N. J. (USA). Ursula Baumann

Zur Chloridbestimmung in Blutserum oder Plasma verwenden H. V. Malmstadt und J. D. Winefordner[1] ihre vor kurzem beschriebene[2] Präzisionsnullpunktspotentiometrie (precision null-point potentiometric method). Das Prinzip der Methode besteht darin, daß man die Probelösung so lange mit einer chloridfreien Lösung derselben Ionenstärke verdünnt, bis die Chloridkonzentration mit der einer schwächeren, bekannten Bezugslösung übereinstimmt, d. h. das Konzentrationspotential Null wird. Das Gerät ist nochmals ausführlich beschrieben. Chlorid kann damit in dem sehr weiten Konzentrationsbereich von 10^{-1} bis 10^{-6} Mol/l sehr genau bestimmt werden. Bei Blutseren genügt eine Probenmenge von 0,1 ml. Automatische Fischer-Porter-25 ml-Büretten mit Teflonhahn dienen zur Zugabe der Verdünnungslösung und automatische Pipetten mit Teflondreiweghahn zur exakten Probenahme (0,2 bzw. 0,1 ml). Die Bezugs- und Verdünnungslösungen werden aus größeren Vorratsmengen an $1{,}000 \cdot 10^{-3}$ m NaCl-Lösung, 5 m Schwefelsäure, 0,1 m $KAl(SO_4)_2$-Lösung und 4%iger Trichloressigsäure hergestellt. 2 Arbeitsvorschriften, a) für die Chloridbestimmung nach dem Enteiweißen und b) für die direkte Bestimmung sind mitgeteilt. — a) 1 ml Serum wird mit 4%iger Trichloressigsäure auf 10 ml verdünnt, kräftig geschüttelt und 3 min zentrifugiert. 0,2 ml der überstehenden klaren Lösung (entsprechend 0,02 ml Serum) werden mit der automatischen Pipette abgenommen und anschließend mit 1 m Schwefelsäure exakt auf ein Volumen von 10,00 ml gebracht. Nach dem Überprüfen des Nullpunkts mit der A-Bezugslösung (100 ml 0,001 m NaCl-Lösung, 200 ml 5 m Schwefelsäure und 18,0 ml Trichloressigsäure im Liter) wird die 10 ml-Probe im Becherglas unter Rühren mit der A-Verdünnungslösung (200 ml 5 m Schwefelsäure und 18,0 ml Trichloressigsäure im Liter) aus der 25 ml-Bürette versetzt, bis der Nullpunkt fast erreicht ist. Mit kleinen Anteilen wird dann zu Ende titriert. Nach jeweils 10 Bestimmungen sollte der Nullpunkt neu überprüft werden. In der zentrifugierten Lösung kann außerdem Calcium nach H. V. Malmstadt und T. P. Hadjiioannou[3]

titriert werden (erforderlich sind 8 ml). — b) 0,1 ml Serum wird mittels der automatischen Pipette mit der B-Verdünnungslösung (200 ml 5 m Schwefelsäure und 0,5 ml 0,1 m Aluminiumalaunlösung im Liter) auf genau 50 ml gebracht. 10 ml davon (entsprechend 0,02 ml Serum) gelangen zur Bestimmung gegen die B-Bezugslösung (100 ml 0,001 m NaCl-Lösung, 200 ml 5 m Schwefelsäure und 0,5 ml Aluminiumalaunlösung im Liter). Sofort nach Erreichen des Nullpunkts wird die Probe durch 15 ml frische Bezugslösung zur Stabilisierung der Elektrode ersetzt, was etwa 1 min erfordert. Der Nullpunkt wird hier jedes Mal neu eingestellt. Der geringe Aluminiumzusatz vermindert eine Potentialverschiebung, die offenbar nur in nichtenteiweißten Proben auftritt. Der Chloridgehalt im Blut in Milliäquivalenten NaCl/l ergibt sich nach beiden Ausführungen aus $NaCl = (10{,}00 + V_a)\,5{,}00$, worin V_a die zugesetzten Milliliter Verdünnungslösung sind. Die ausgezeichnete Reproduzierbarkeit und Genauigkeit beider Verfahren zeigt eine Tabelle. Der relative Fehler liegt unter 0,5%. Der Zeitbedarf für eine Bestimmung beträgt 4 bzw. 1 min. Die Methode ist auch anwendbar auf andere biologische Flüssigkeiten wie Urin, Rückenmarksflüssigkeit usw. Allgemeine Betrachtungen dazu werden mitgeteilt.

[1] Clin. Chemistry **5**, 284—296 (1959). Univ. Urbana, Ill. (USA). — [2] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **20**, 283 (1959); vgl. diese Z. **172**, 296 (1960). — [3] Clin. Chemistry **5**, 50 (1959); vgl. diese Z. **173**, 338 (1960). E. Bankmann

Bei der Jodbestimmung im Eiweiß nach Barker[1] können durch Proben mit außergewöhnlich hohem Jodgehalt, die mit anderen Proben zusammen im gleichen Ofen erhitzt werden, bei diesen anderen Proben falsche Resultate erhalten werden. J. A. Ackerman und J. T. Myers[2] geben deshalb ein Verfahren zur Auswahl der brauchbaren Proben an. Die Empfindlichkeitsgrenze liegt bei 400 µg/100 ml. Unter dieser Konzentration werden keine Störungen mehr beobachtet. Der Versuch kann in 15—20 min ausgeführt werden. — *Arbeitsweise.* Zu 0,1 ml 4 n Natriumcarbonatlösung gibt man in einem Reagensglas (100×15 mm) 0,1 ml Serum und erhitzt 3 min im siedenden Wasserbad. Man kühlt ab, gibt 1 ml Wasser und 1 ml 2 n Salzsäure zu und schüttelt leicht 2—3 min. Mit einem Glasstab wird das zusammengeballte Eiweiß entfernt. Zur salzsauren Lösung gibt man 0,1 ml 0,1 n Natriumarsenitlösung und 0,4 ml 0,02 Cer(IV)-ammoniumsulfatlösung und setzt eine Stoppuhr in Gang. Alle Proben, die innerhalb von 10 min entfärbt sind, werden ausgesondert. Solche, die gerade nach 10 min entfärbt sind, müssen beobachtet werden. Normale Seren sind nach 30 min noch gelbgefärbt. 400 µg Jod entfärben in 2—3, höchstens 5 min.

[1] Barker, S. E., M. J. Humphrey u. M. H. Soley: J. clin. Invest. **30**, 55 (1951); vgl. diese Z. **135**, 458 (1952). — [2] Clin. Chemistry **5**, 615—616 (1959). Bendiner & Schlesinger Lab., New York, N. Y. (USA). Margot Zimmermann

Zur polarographischen Bestimmung kleinster Manganmengen in biologischem Material haben R. Portillo, P. Sanz Pedrero und J. B. Benmamam[1] folgende *Arbeitsvorschrift* ausgearbeitet: 2 oder 3 g des Materials (50—100 µg Mn entsprechend) werden im Quarz- oder Platintiegel verascht (Erhitzen bis 730° C), die Asche wird in 5 ml konz. Salzsäure aufgenommen, zur Trockne eingedampft und nach Erhitzen bis auf 110° C mit 5 ml 1 n Salzsäure aufgenommen. Die Kieselsäure wird abfiltriert. Nach Zugabe von 5 ml $CuCl_2$-Lösung (400 µg Cu/ml) wird das Kupfer zusammen mit dem Mangan mit 1 n Lithiumhydroxydlösung gefällt und nach 5 min durch ein G 3-Filter abfiltriert. Der mit 15 ml Wasser gewaschene Niederschlag wird in 15 ml 3 n Salzsäure gelöst und wiederum bis zur Trockne eingedampft und schließlich mit einigen Tropfen 0,1 n Salzsäure, dann mit 1 n Salzsäure und 5 ml

Wasser gelöst und die Lösung dabei auf den p_H-Wert 4—5 gebracht. Aus 2 ml dieser Lösung, 1 ml Standardlösung (10 μg Mn/ml, aus Permanganat — mit Oxalsäure entfärbt — hergestellt und mit Ammoniak auf den p_H-Wert 5—5,5 eingestellt) und 1 ml Wasser wird dann eine Mischung hergestellt, die zur Aufnahme folgender Polarogramme an der Tropfelektrode (20 Tr. je Sekunde) verwendet wird: An der Lösung a) aus 1 ml Mischung in 8 ml Grundlösung (0,1 n Lithiumsulfitlösung) und 1 ml Wasser; b) aus 1 ml Mischung, 8 ml Grundlösung und 1 ml Probelösung vom p_H-Wert 4—5; c) aus 1 ml Mischung, 8 ml Grundlösung und 1 ml Standardlösung. Durch Vergleich der Stufenhöhen bei —1,54 V wird dann der Mn-Gehalt ermittelt. In Testanalysen mit Zugaben von 50 μg Mn liegt der Fehler unter 10%. Die Reproduzierbarkeit der Analyse ist sehr gut. — Das *Lithiumsulfit* wird durch Einleiten von SO_2 in die wäßrige Aufschlämmung von Lithiumcarbonat hergestellt, *Lithiumhydroxydlösung* bereitet man durch elektrolytische Abscheidung von Lithium aus LiCl als Amalgam und Zersetzen des Amalgams mit Wasser.

[1] An. Real. Acad. Farmac. **25**, 271—283 (1959). Pharmaz. Fak., Madrid (Spanien). K. Cruse

Über Erfahrungen mit der Serumeisen- und Serumkupfer-Simultanbestimmung berichtet F. G. Weyer[1]. Die ursprünglich von F. Umland und F. G. Weyer[2] ausgearbeitete Methode wird so modifiziert, daß zur Analyse nur noch 4,0 ml Serum benötigt werden, deren Salzsäure-Trichloressigsäure-Extrakt hydrolysiert und dann nur 1mal mit Chloroform extrahiert wird. Der Umrechnungsfaktor für die Eisenbestimmung bei 580 nm ändert sich zu 15,3. Der verwendete Puffer wird vor Gebrauch mit Chloroform extrahiert und damit eine Verminderung des Reagentienblindwertes erreicht. — *Arbeitsweise.* Man pipettiert 4,0 ml Serum in ein Zentrifugenglas, setzt 2,0 ml 6 n Salzsäure und nach 10 min 4,0 ml 20%ige Trichloressigsäure zu, schüttelt um und läßt mindestens 10 min stehen. Man zentrifugiert bei 3000 U/min, bis sich auch die etwa auf der Oberfläche schwimmenden Eiweißpartikel abgesetzt haben. Man gießt die überstehende Lösung in ein 16×160 mm-Quarzreagensglas und hydrolysiert die Lösung 30 min bei 90° C. Nach 30—60 min dekantiert man von einem etwa entstandenen Niederschlag in einen Schütteltrichter ab, setzt 0,050 ml 1%ige Oxinlösung zu und schüttelt um. Man neutralisiert die Lösung mit 25%igem Ammoniak (Zugabe aus einer Bürette, Verbrauch etwa 0,95 ml; Kontrolle des Neutralpunktes mit Indicatorpapier) und gibt 5,0 ml des gereinigten Acetatpuffers p_H 5,4 zu (Puffer mit 0,2 ml Oxinlösung versetzen und 2—3mal mit je 5 ml Chloroform ausschütteln). Dann setzt man 2,0 ml Chloroform zu, schüttelt mindestens 2 min, trennt die Chloroformschicht ab, zentrifugiert 2—3 min bei 3000 U/min und füllt die überstehende Lösung in Halbmikroküvetten um. Die Extinktion wird gegen reines Chloroform gemessen, wie früher[2] beschrieben. Der Reagentienblindwert muß abgezogen werden. (Durch Messung bei 580 nm erhält man den Extinktionswert für Eisen; bei 410 nm erhält man eine Extinktion von Fe + Cu. Aus der Differenz ergibt sich der Wert für Cu, wobei noch zu berücksichtigen ist, daß die Extinktion des Eisens bei 410 nm 93% des Wertes bei 580 nm beträgt.)

[1] Ärztl. Lab. **6**, 69—81 (1960). — [2] Klin. Wschr. **33**, 237 (1955).
Ursula Baumann

Aminosäuren. *Über die Charakterisierung von Aminosäuren mit Hilfe ihrer Dibenzofuran-2-sulfonate* berichten R. E. Dunbar und F. J. Ferrin[1]. Die beim Zusammengeben von äquimolaren Mengen der Komponenten in der Kälte auskristallisierenden Derivate können auf Grund ihres Stickstoff- und Schwefelgehaltes sowie ihres Schmelzpunktes und ihrer Kristallform (Mikrophotographien im

Original) zur Identifizierung von Aminosäuren herangezogen werden. Weiter ist die Molekulargewichtsbestimmung einer Aminosäure über die acidimetrische Titration ihres Dibenzo-2-sulfonates möglich.

[1] Microchemic. J. **4**, 59—72 (1960). State Coll., Fargo, N.D. (USA).
H. Garschagen

Zur photometrischen Mikrobestimmung von Aminosäuren in biologischen Flüssigkeiten verwenden A. Saifer, S. Gerstenfeld und A. F. Harris[1] die Ninhydrinmethode nach E. W. Yemm und E. C. Cocking[2] mit einigen Abänderungen. Die Originalarbeit enthält genaue Arbeitsvorschriften zur Aminosäurestickstoffbestimmung in *Serum* oder *Plasma*, *Urin* und *cerebrospinalen Flüssigkeiten*.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **5**, 131—140 (1960). Jewish Chronic Disease Hospital, Brooklyn, New York, N.Y. (USA). — [2] Analyst **80**, 209 (1955); vgl. diese Z. **149**, 318 (1956). H. Garschagen

Über die papierchromatographische Bestimmung der freien Aminosäuren im Liquor cerebrospinalis gesunder Menschen berichten D. Müting und K. N. Shivaram[1]. Mit der Methode von F. G. Fischer und H. Dörfel[2] untersuchen Verff. die Liquores von 25 gesunden Erwachsenen und stellen ihre Befunde über 23 Aminosäuren denen anderer Autoren in einer Tabelle gegenüber. Der aus den gefundenen Aminosäuren errechnete α-Amino-N (0,63 mg/100 ml) liegt unter dem colorimetrisch bestimmten Wert (0,75 mg/100 ml). Für die Differenz machen Verff. Peptide und Amine verantwortlich.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **317**, 34—38 (1959). Med. Univ.-Klinik Homburg/Saar. — [2] Biochem. Z. **324**, 544 (1953). E. Müller, Würzburg

Bestimmung von Serumproteinen. W. Mejbaum-Katzenellenbogen und W. M. Dobryszycka[1] haben mit Rücksicht darauf, daß nach Durrum gefärbte Proteinzonen bei der Papierelektrophorese mit Natronlauge nicht quantitativ eluierbar sind, um sie dann nach der Tannin-Mikromethode[2] turbidimetrisch quantitativ zu analysieren, eine neue Methode ausgearbeitet. Hierbei wird eine Fixierung der Proteine mit Tannin und eine gleichzeitige Färbung mit Bromphenolblau ohne Sublimatzusatz vorgenommen, durch welche die anschließende Eluierung mit 0,1 n Natronlauge und die turbidimetrische Analyse nicht beeinflußt werden. — *Arbeitsvorschrift.* Der Papierstreifen wird nach der Elektrophorese feucht oder bei 90° C getrocknet 5 min in „Kado"-Reagens getaucht (siehe unten). Farbstoff- und Tanninüberschuß werden durch Waschen mit Wasser (5 min) entfernt, so daß die Zonen sichtbar werden. Man trocknet zwischen Filterpapier (nicht über 40° C!), schneidet die Zonen aus und eluiert mit 0,1 n Natronlauge (20 min). Je 1 ml dieser Proteinlösungen wird dann 5 min bei 30° C (± 1°) gehalten; man fügt 1 ml der auf ebenfalls 30° C vorgewärmten Tanninlösung hinzu, nach weiteren 10 min noch 2 ml einer 0,1%igen klaren Lösung von Gummiarabicum zur Stabilisierung der Trübung und kühlt dann rasch auf Raumtemperatur ab. Im Hilger-Absorptiometer wird dann die optische Dichte mit Rotfilter ROR 2 gemessen und gegen eine Blindprobe verglichen; sie steigt für Proteingehalte von 10—100 μg je 4 ml proportional mit dem Proteingehalt. Höhere Gehalte dürfen nicht vorliegen. Der Standardfehler der Methode liegt bei ± 3%. — *„Kado"-Reagens.* 50 mg Bromphenolblau werden in 3—4 ml Äthylalkohol gelöst und mit Tanninreagens auf 100 ml aufgefüllt. Zur Herstellung des letzteren werden 2 ml Phenol bei 80° C in 98 ml 1 n Salzsäure gelöst, danach werden ebenfalls bei 80° C 10 g Tanninsäure darin gelöst; erforderlichenfalls wird filtriert.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 515—522 (1959). Univ. Wroclaw (Polen). — [2] Mejbaum-Katzenellenbogen, W.: Acta biochim. polon. **2**, 279 (1955); Bull. Acad. polon. Sci., Classe 2, **3**, 171 (1955); vgl. diese Z. **151**, 452 (1956). K. Cruse

Die Bestimmung von Glucose im Serum führen H. V. Malmstadt und G. P. Hicks[1] durch, indem sie die Glucose zunächst *durch Glucoseoxydase oxydieren* und das entstehende Wasserstoffperoxyd in Gegenwart von *Meerrettichperoxydase mit Zinksulfat und o-Dianisidin* reagieren lassen. Die Konzentration des entstehenden Farbstoffs ist der Glucosekonzentration proportional. Der Vorteil der Methode liegt darin, daß das Ende der Reaktion nicht abgewartet werden muß, sondern daß der *in der ersten Versuchsminute gebildete Farbstoff ein Maß für den Glucosegehalt ist.* Die für die Bestimmung entwickelte Apparatur, in der die Zugabe der Reagentien, Stop der Reaktion und Messung der Extinktion automatisch geregelt sind, ist ausführlich beschrieben.

[1] Analyt. Chemistry **32**, 394—398 (1960). Univ. Urbana, Ill. (USA).

Ursula Baumann

Eine photometrische Schnellmethode zur Bestimmung der „scheinbaren" Blutglucose (der reduzierenden Substanzen im Blut) beschreibt E. Valverde[1]. — *Ausführung.* In einem graduierten 15 ml-Pyrex-Zentrifugenglas werden 2 ml des proteinfreien Filtrats (deproteinisiert nach Folin und Wu in der Kälte mit Wolframreagens) mit 4 ml 0,005 n alkalischer Hexacyanoferrat(III)-lösung versetzt. (Man löst 1,65 g des Kaliumsalzes in 100 ml dest. Wasser und 10,6 g wasserfreies Natriumcarbonat in 300 ml Wasser, gibt beides zusammen in einen Meßkolben und füllt auf 1000 ml auf.) Man mischt durch Rotieren, bringt für 10 min in ein siedendes Wasserbad, läßt abkühlen und gibt 3 ml einer KJ-Lösung (gleiche Teile einer Lösung von 5 g KJ und 25 g NaCl in 100 ml Wasser und einer Lösung von 10 g Zinksulfat und 25 g NaCl in 100 ml Wasser) und 3 ml 3%ige Essigsäure zu. Man schließt das Glas, schüttelt gut durch, läßt dann das CO_2 entweichen, wiederholt das Schütteln, zentrifugiert 2—3 min bei 2500 U/min, gibt die überstehende Flüssigkeit in Küvetten und photocolorimetriert gegen dest. Wasser bei 420 nm. Die Eichkurve wird mit einer Standard-Glucoselösung hergestellt.

[1] An. Asoc. quím. argent. **47**, 135—142 (1959). Irmgard Pfitzer

Eine Methode zur Bestimmung von Heparin im Blut teilt E. Hiepler[1] mit. Nach eingehenden Untersuchungen gelingt es Verf., ein Verfahren zu entwickeln, das klinischen Belangen entspricht, und mit dem man Mikrogramme Heparin/ml Blut direkt ermittelt. Das Prinzip der Methode besteht darin, daß mit isotonischer Natriumchloridlösung verdünntes Citratblut mit stark verdünnter Heparinlösung hämolysiert und mit verdünnter Thromboplastinlösung nach Recalcifizierung zur Gerinnung gebracht wird. Bei den gegebenen Versuchsbedingungen ist das Resultat auf Nativblut übertragbar. — *Ausführung.* 9 Teile Citratblut (Blut: 3,6%igem Citrat = 9:1) verdünnt man mit 1 Teil 0,9%iger Natriumchloridlösung, gibt davon je 0,1 ml in 2—3 Röhrchen, versetzt mit 0,4 ml wäßriger Heparinlösung von 2,5 μg/ml (siehe unten) und läßt zum Hämolysieren 10 min stehen. Nach 1 min langem Vorwärmen im Wasserbad von 37° C setzt man mit einer Tuberkulinspritze gemeinsam je 0,1 ml vorgewärmte 0,025 m Calciumchloridlösung und kalte verdünnte Thromboplastinlösung (siehe unten) zu und ermittelt den Gerinnungseintritt mit dem Platinhaken. Der Mittelwert der Gerinnungszeit ist ein Maß für Mikrogramme Heparin/ml Blut. Den Wert entnimmt man einer Eichkurve, die man folgendermaßen aufstellt: Man versetzt 0,1 ml Citrat-NaCl-Blut mit 0,4 ml Heparinlösung zu 2,5 bzw. 5,0 μg/ml; in weiteren Ansätzen verwendet man 0,4 ml verdünnter Heparinlösung, die man durch Mischen von 0,1 ml (0,15; 0,2; 0,25; 0,3 ml) Heparinlösung zu 20 μg/ml mit 0,3 ml (0,25; 0,2; 0,15; 0,1 ml) Wasser erhalten hat. Man stellt nach 10 min Hämolysieren und Vorwärmen auf 37° C durch Zusatz von 0,1 ml 0,025 m Calciumchloridlösung + 0,1 ml 5%iger Thromboplastinlösung in den einzelnen Ansätzen die Gerinnungszeit fest und trägt sie (als Ordinate) gegen

Mikrogramm Heparin auf. — *Heparinlösungen. a)* 100 µg/ml 0,9%iger Natriumchloridlösung: 0,2 ml Liquemin werden mit 4,8 ml 0,9%iger NaCl-Lösung verdünnt und davon 0,5 ml mit 9,5 ml 0,9%iger NaCl-Lösung weiter verdünnt. *b)* 20 µg/ml Wasser: man verdünnt 2,0 ml der Lösung a mit 8,0 ml Wasser. *c)* 2,5 µg/ml Wasser: man verdünnt 0,5 ml der Lösung b mit 3,5 ml Wasser. Bei Verwendung einer 10%igen Thromboplastinlösung benutzt man eine Heparinlösung von 5,0 µg/ml Wasser. — *5%ige Thromboplastinlösung* (bzw. andere Konzentration): Die Lösung in 0,9%iger Natriumchloridlösung enthält 40 mg Fibrinogen/4 ml, sie wird während der Bestimmung in Eis aufgehoben.

[1] Arzneimittel-Forsch. **9**, 763—765 (1959). E. Müller, Würzburg

Eine schnelle Methode zur Bestimmung von 17-Ketosteroiden in Harn teilen F. Rappaport, J. Fischl und N. Pinto[1] mit. Es handelt sich um eine Modifikation der von J. J. Drekter, S. Pearson, E. Bartaak und T. H. McGavack[2] angegebenen Methode, die auf der *Zimmermann*-Reaktion beruht. Die Spezifität wird durch selektive Chloroformextraktion des Farbstoffkomplexes der 17-Ketosteroide erreicht, was gleichzeitig den Vorgang beschleunigt. Eine Trübung des Chloroformextraktes läßt sich durch Polyäthylenglykolzusatz beseitigen. — *Ausführung.* Den 24 Std-Harn sammelt man über 2 ml konz. Salzsäure, mißt das Volumen, gibt 5 ml in ein 40—50 ml-Reagensglas, fügt 1,5 ml konz. Salzsäure hinzu, erwärmt 12 min in einem Wasserbad von 80—85° C und läßt abkühlen. Nach Zusatz von 20 ml Äther schüttelt man das verschlossene Glas 30 sec kräftig, verwirft nach Trennung die wäßrige Phase, schüttelt mit 10 ml 10%iger Natronlauge einige Sekunden, verwirft die Natronlauge und wäscht mit 15 ml Wasser. 10 und 5 ml Ätherextrakt (2,5 und 1,25 ml Harn entsprechend) gibt man in zwei 20 ml-Reagensgläser und verdampft den Äther im Wasserbad. Den Trockenrückstand versetzt man mit 0,2 ml abs. Alkohol, 0,3 ml 5 n Kalilauge und 0,2 ml 2%iger m-Dinitrobenzollösung in abs. Äthanol (einige Wochen im Kühlschrank haltbar), wobei man nach jedem Zusatz gut schüttelt. Die Gläser kommen für 90 min vor Licht geschützt in ein Wasserbad von 25° C, werden in Eiswasser gekühlt und unter Mischen mit 1 ml 80%igem Alkohol und 3 ml Chloroform versetzt. Nachdem man die Lösung 5 bis 10 sec kräftig geschüttelt hat, gibt man sie in ein bei 3 ml markiertes Zentrifugenglas, zentrifugiert 5 min bei 3000 U/min, hebert Überstand und etwas Chloroform mit einer Capillarpipette bis zur 3 ml-Marke ab, setzt 0,1 ml Polyäthylenglykol zu, mischt und photometriert bei 540 nm gegen einen Blindansatz von 0,2 ml abs. Äthanol, behandelt wie der Ätherextrakt. In gleicher Weise verfährt man mit je 0,2 ml einer „schwachen" und „starken" Standardlösung, die man vor Gebrauch aus einer Lösung von 20 mg Dehydroisoandrosteron in 100 ml abs. Äthanol herstellt. 0,2 ml dieser Stammlösung gibt man in ein bei 3 ml markiertes Zentrifugenglas und mischt mit 0,2 ml abs. Äthanol. Von dieser Mischung pipettiert man 0,2 ml in ein zweites gleiches Zentrifugenglas, versetzt mit 0,2 ml abs. Äthanol, mischt und verwirft 0,2 ml dieser Mischung. Das erste Glas enthält 20 µg und das zweite 10 µg Dehydroisoandrosteron. Für die Berechnung benutzt man die der Probe am nächsten liegende Standardlösung. Bei Verwendung von 10 ml Extrakt und „schwacher" Standardlösung ist $(0{,}4/RS) \cdot RU$ = mg/100 ml 17-Ketosteroid als Dehydroisoandrosteron, worin RS Standardlösung und RU Ablesung der unbekannten Probe ist. Bei Auswertung gegen die „starke" Standardlösung wird der Faktor 0,4 durch 0,8 ersetzt. Ist man von 5 ml Extrakt ausgegangen, muß man den Wert mit 2 multiplizieren. Die 24 Std-Ausscheidung errechnet sich in bekannter Weise.

[1] Clin. Chemistry **6**, 16—22 (1960). Hospital Petach Tikva und Govt. Hospital, Zrifin (Israel). — [2] J. clin. Endocrinol. **7**, 795 (1947). E. Müller, Würzburg